

**Zur Wirkung von Motilin, Pentagastrin und
Carbachol auf die Magen- und Speichel-
sekretion des Menschen**

von

Dr. rer. nat. Bertram Alexander Schmack

aus

Katscher/OS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548420_0071

Aus der Medizinischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. L. Demling

Zur Wirkung von Motilin, Pentagastrin und Carbachol auf die Magen- und Speichel- sekretion des Menschen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Dr. rer. nat. Bertram Alexander Schmack

aus

Katscher/OS

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereiches Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof.Dr.med.E. Rügheimer
Referent: Priv.-Doz.Dr.med.W.Domschke
Korreferent: Prof.Dr.med.L.Demling

Tag der mündlichen Prüfung: 5.5.1977

Ich salutiere den gelehrten Herrn!

Ihr habt mich weidlich schwitzen machen.

(Goethe, Faust)

Herrn Prof.Dr.med.L.Demling und Herrn
Priv.-Doz.Dr.med.W.Domschke möchte ich
für die Überlassung des Themas und die
Benützung der notwendigen Klinikein-
richtungen herzlich danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-
Doz.Dr.med.W.Domschke für die hervor-
ragende wissenschaftliche Betreuung der
Arbeit.

Der Studienstiftung Des Deutschen Volkes
danke ich für die großzügige finanzielle
Förderung dieser Arbeit.

INHALTSVERZEICHNIS

		<u>Seite</u>
I.	Einleitung	1
II.	Material und Methoden	7
1.	Patientengut	7
2.	Magensaftgewinnung	7
3.	Magensekretionsanalysen	8
3.1	Säurebestimmung	8
3.2.1	Volumenkorrektur mit ^{14}C -Polyäthylenglykol	9
3.2.2	Volumenkorrektur mit Phenolrot	9
3.3	Proteinmessung (Biuret)	10
3.4	Pepsinaktivitätsmessung	11
3.5	N-Azetylneuraminsäurebestimmung	12
4.	Speichelgewinnung	13
5.	Speichelsekretionsanalysen	13
5.1	Bikarbonatbestimmung	13
5.2	α -Amylasebestimmung	14
5.3	Proteinbestimmung (Lowry)	15
5.4	Bestimmung von Zyκλο-AMP	16
5.4.1	Speichelaufbereitung	16
5.4.2	Zyκλο-AMP-Messung (Radioisotopenverdünnungstest)	16
6.	Statistik	19

7.	Reagentien und Geräte	20
7.1	Reagentien	20
7.2	Geräte	21
III.	Ergebnisse	22
1.	Versuchsreihe mit Pentagastrin	22
1.1	Alter und Körpergewicht der Patienten	22
1.2	Magensekretionsanalysen	22
1.2.1	Volumina	22
1.2.2	Säuresekretion	23
1.2.3	Proteinbestimmung (Biuret)	24
1.2.4	Pepsinaktivitätsbestimmung	24
1.2.5	N-Azetylneuraminsäurebestimmung	25
1.3	Speichelsekretionsanalysen	27
1.3.1	Volumenbestimmung	27
1.3.2	Bikarbonatbestimmung	27
1.3.3	Amylaseaktivitätsbestimmung	28
1.3.4	Proteinbestimmung (Lowry)	28
1.3.5	N-Azetylneuraminsäurebestimmung	29
1.3.6	Zyklo-AMP-Bestimmung	30
2.	Versuchsreihe mit 13-Norleucin-Motilin	31
2.1	Alter und Körpergewicht	31
2.2	Magensekretionsanalysen	31
2.2.1	Volumenbestimmung	31
2.2.2	Säuresekretion	32
2.2.3	Proteinbestimmung (Biuret)	32

	<u>Seite</u>
2.2.4 Pepsinaktivitätsbestimmung	33
2.2.5 N-Azetylneuraminsäurebestimmung	34
2.2.6 Zyκλο-AMP-Bestimmung	35
2.3. Speichelsekretionsanalysen	35
2.3.1 Volumenbestimmung	35
2.3.2 Bikarbonatbestimmung	36
2.3.3 Amylaseaktivitätsbestimmung	36
2.3.4 Proteinbestimmung (Lowry)	37
2.3.5 N-Azetylneuraminsäurebestimmung	37
2.3.6 Zyκλο-AMP-Bestimmung	39
3. Versuchsreihe mit Doryl ^R (Carbachol)	39
3.1 Alter und Körpergewicht	39
3.2 Magensekretionsanalysen	39
3.2.1 Volumenbestimmung	40
3.2.2 Säuresekretion	41
3.3 Speichelsekretionsanalysen	42
3.3.1 Volumenbestimmung	43
3.3.2 Bikarbonatbestimmung	44
3.3.3 Amylaseaktivitätsbestimmung	46
3.3.4 Proteinbestimmung (Lowry)	47
3.3.5 N-Azetylneuraminsäurebestimmung	49
3.3.6 Zyκλο-AMP-Bestimmung	51
3.3.7 Korrelationsanalysen	52
3.3.7.1 Basalphase-Konzentration	53
3.3.7.2 Basalphase-'output'/15 Min.	54
3.3.7.3 Stim.-Phase - Konzentration	55

	<u>Seite</u>
3.3.7.4 Stim.-Phase - 'output'/15 Min.	56
IV. Diskussion	57
1. Versuchsreihe mit Pentagastrin	57
1.1 Magensaftgewinnung	57
1.2 Stimulation der Magensekretion	57
1.3 Magensaft	58
1.3.1 Volumenkorrektur	59
1.3.2 Protein	60
1.3.3 Pepsin	60
1.3.4 Glykoproteine und N-Azetylneuramin- säure	61
1.3.5 Vergleich basale-stim.Phase	62
1.4 Speichelsekretion	63
1.4.1 Stimulationsmethode und Volumenbestim- mung	63
1.4.2 Amylase	64
1.4.3 Vergleich der einzelnen Parameter basal - stimuliert	64
1.4.4 Vergleich der salivären Bikarbonat - mit der gastralen Säureproduktion	65
1.4.5 Vergleich Protein und N-Azetylneuramin- säure im Speichel und Magensaft	66
2. Versuchsreihe mit 13-Norleucin-Motilin	66
3. Versuchsreihe mit Doryl ^R (Carbachol)	68
V. Zusammenfassung	72
VI. Literaturverzeichnis	74
VII. Lebenslauf	88

I. EINLEITUNG

Während ihrer Studien über die hyperglykämische Wirkung von Adrenalin und Glukagon isolierten Rall, Sutherland und Berthet (73) eine Verbindung, die die Glykogenolyse stimulierte. Weiterführende Untersuchungen ergaben, daß es sich hierbei um Adenosin - 3', 5'-Monophosphat handelte. Adrenalin und Glukagon steigern die Bildungsrate von Zyκλο-AMP, welches wiederum die Bildung der aktiven Phosphorylase a aus der inaktiven Phosphorylase b fördert und so die Glykogenolyse stimuliert (94).

Seit dieser Entdeckung wurden viele Hormone beschrieben, die den Zellgehalt an zyklischem AMP beeinflussen (79). Es wurde das Konzept entwickelt, daß diese Hormone mittels eines 'second messenger'-Systems wirken (94).

Das als 'first messenger' agierende Hormon verläßt die Ursprungszelle, gelangt auf dem Blutweg zum Zielort, wo es zur Bildung eines zweiten intrazellulären 'messenger' führt. Der Gehalt der Zelle an Zyκλο-AMP wird durch mindestens zwei Enzyme geregelt: Adenylzyklase, die die Bildung aus Adenosintriphosphat (ATP) katalysiert, und Phosphodiesterase, welche die Hydrolyse zu 5'-AMP bewirkt. Theoretisch könnte ein Hormon durch Beeinflussung nur eines dieser Enzyme wirken. Normalerweise scheint jedoch vorwiegend die Aktivität der Adenylzyklase beeinflußt zu werden. Dies überrascht auch nicht, denn die Adenylzyklase ist mehr in der Zellmembran und gewissen intrazellulären membranösen Strukturen lokalisiert, wohingegen die Phosphodiesterase mehr diffus innerhalb der Zelle verteilt ist. Die Phosphodi-

esterase wird kompetitiv gehemmt durch die Methylxanthine, vor allem Theophyllin, Theobromin und Koffein. Beide, Adenylzyklase und Phosphodiesterase, kommen in nahezu allen Zellen der höheren Organismen vor. Eine Ausnahme stellen die kernlosen Erythrozyten der Säugetiere dar (21, 95).

Der Beweis für die Beteiligung von zyklischem AMP an der Wirkungsweise von Hormonen wurde zuerst an aufgearbeiteten Zellfraktionen der entsprechenden Gewebe erbracht. Die Aktivität der Adenylzyklase wurde durch Messung der Zyκλο-AMP-Bildung aus exogenem ATP in Gegenwart wie auch bei Abwesenheit des entsprechenden Hormons bestimmt (64, 72).

Arbeitet man unter physiologischen Bedingungen, so kann der Beweis durch die Überprüfung zweier weiterer Kriterien erbracht werden:

1. Kann die Wirkungsweise des Hormons durch Zugabe von exogenem Zyκλο-AMP oder eines seiner Derivate nachgeahmt werden?
2. Kann die Hormonwirkung durch Methylxanthine imitiert oder zumindest verstärkt werden?

Untersuchungen solcher Art haben das zyklische AMP in die Wirkungsweise vieler Hormone einbezogen (79).

Die Zunahme des Ionentransports durch Zyκλο-AMP wurde erstmals von Orloff und Händler gezeigt (66). Die auffallende Ähnlichkeit der Wirkung von Zyκλο-AMP, Theophyllin und Vasopressin auf den osmotischen Fluß durch die isolierte Krötenblase stimmte mit der Ansicht dieses Verfassers überein, daß Vasopressin die Bildung und

- 3 -

Akkumulation von zyklischem AMP in diesem Gewebe stimuliert.

Es ist seit langem bekannt, daß Methylxanthine die Magensekretion anregen (80) und die durch Histamin stimulierte Magensekretion verstärken können (78). In bezug auf die Hypothese des 'second messenger' erlangten die Beobachtungen zusätzlich an Bedeutung.

Das Interesse am zyklischen AMP als Vermittler im Mechanismus der Magensekretion wuchs weiter nach der Beobachtung von Alonso und Harris (2), daß Methylxanthine die Säuresekretion der Magenschleimhaut des Frosches in vitro stimulierten. Die gleichen Autoren haben auch gezeigt, daß die Magensäuresekretion in gleicher Weise durch Gastrin und durch Zyκλο-AMP stimuliert wird (47).

Die stimulierende Wirkung von Dibutyryl-Zyκλο-AMP, einem synthetischen Derivat, das leichter in die Zellen gelangt, und Theophyllin auf die Magensekretion bei der Ratte wurde von Shaw und Mitarbeitern nachgewiesen (91).

Es gibt also einige Befunde, die die Wirkungsweise von Histamin und Gastrin bei der Magensekretion mit dem zyklischen AMP in Verbindung bringen.

Diese Beobachtungen haben Case, Laundry und Scratcherd (23) veranlaßt, die Wirkung des zyklischen AMP und der Methylxanthine auf die Pankreassekretion der Katze zu testen (22). Es zeigte sich, daß Zyκλο-AMP beim Wirkmechanismus des Sekretin ebenfalls eine Rolle spielte.

In jüngerer Zeit wurde gezeigt, daß die gastrointestinalen Hormone auch den Transport von Wasser und Elektro-

lyten im Intestinum beeinflussen (39, 41). In diesem Zusammenhang war deshalb die Beobachtung, daß sowohl Zyklo-AMP als auch Theophyllin die Chlorid-Sekretion in der isolierten Ileumschleimhaut des Kaninchens vermehren, die Natriumabsorption hemmen, sehr bemerkenswert (38).

Es hat eine Anzahl von Studien gegeben, die bestätigt haben, daß das zyklische AMP in den Mechanismus der Enzymsekretion von Säugerdrüsen miteinbezogen ist. Schramm und Mitarbeiter (9) haben beispielsweise festgestellt, daß Adrenalin ein starker Induktor der Enzymsekretion in der Parotis der Ratte ist. Da die Arbeiten von Sutherland und anderen Autoren zeigen, daß das zyklische AMP bei der Wirkungsweise des Adrenalin in verschiedenen Geweben als intrazellulärer Vermittler erscheint, prüfte Schramm auch die Rolle des Zyklo-AMP: Mono- und Dibutyryl-Zyklo-AMP induzierten tatsächlich die Amylasesekretion der Kaninchenparotis, ebenso Theophyllin und Koffein (7, 10).

Unter ähnlichen Arbeitsbedingungen kamen Kulka und Sternlicht (56) zu entsprechenden Ergebnissen beim Mäusepankreas. Die Amylasesekretion wurde nämlich durch Pankreozymin, Peptavlon und Carbamylcholin (Carbachol) ebenso stimuliert wie durch zyklisches AMP, seine Mono- und Dibutyrylderivate und Theophyllin. Überdies bemerkten Kulka und Sternlicht (56), daß 3'-AMP (nicht 5'-AMP) die durch zyklisches AMP induzierte Sekretion kompetitiv hemmte. Ähnliche Beobachtungen wurden von Ridderstrap (77) am isolierten Kaninchenpankreas gemacht.

Seit jüngerer Zeit gilt es bei der Ratte als erwiesen, daß das zyklische AMP bei der durch Histamin stimulierten Magensäuresekretion als 'second messenger' fungiert (30).

Bei der gleichen Spezies konnten Ruoff und Mitarbeiter (81) zeigen, daß Pentagastrin eine Anreicherung von zyklischem AMP in der Magenschleimhaut bewirkt.

Beim Menschen wird die Stimulation der Magensäuresekretion durch Betazol oder Histamin von einer vermehrten Zyκλο-AMP-Sekretion in den Magensaft begleitet (17, 57), wobei jedoch auszuschließen gilt, daß es sich hierbei um einen bloßen Auswascheffekt handelt.

Pentagastrin erhöht die Zyκλο-AMP-Konzentration in der Magenschleimhaut der Ratte, wobei eine Aktivierung der Adenylzyklase vorausgeht (15). Dagegen bleibt das Pentapeptid auf die Aktivität der Zyκλο-AMP-Phosphodiesterase der säurebildenden Zellen der Magenschleimhaut ohne Wirkung (74). Im Gegensatz hierzu wird die Zyκλο-AMP-Phosphodiesterase in der Kaninchen- und Hundemagenschleimhaut durch Pentagastrin stimuliert (3, 4).

Die Einbeziehung von zyklischem AMP in den Mechanismus der Magensekretion bei der Ratte wurde kürzlich von Domschke und Mitarbeitern (28) aufgezeigt, die von einem gleichlaufendem Tages-Nacht-Rhythmus von Magensäure- 'output' und Zyκλο-AMP-Gehalt der Magenschleimhaut berichteten. Über die Rolle des Zyκλο-AMP bei der Wirkung von Glukokortikoiden auf die Magensäuresekretion der Ratte wurde ebenfalls berichtet (29). Dagegen ließ sich beim Menschen eine Anreicherung von zyklischem AMP in der Magenschleimhaut nach Pentagastrinstimulation nicht nachweisen (32).

Um die Einbeziehung des zyklischen AMP in den Wirkungsmechanismus von Hormonen weiter aufzuklären, haben

Berridge und Prince (13) ihre Studien auch auf die Speichelsekretion der Schmeißfliege (*Calliphora*) ausgedehnt (14, 71). Danach soll zyklisches AMP, seine Butyrylderivate und die Methylxanthine, die ja zu einer Erhöhung des Zyκλο-AMP-Spiegels in der Zelle führen, den Speichelfluß genauso stimulieren können wie 5-Hydroxytryptamin, obwohl Potentialmessungen ergeben haben, daß das elektrische Verhalten der Speicheldrüsenzelle bei Zyκλο-AMP und 5-Hydroxytryptamin qualitativ verschieden ist.

Bei den vorstehend aufgeführten Daten zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Spezies. Es ist deshalb nicht möglich, vernünftige Voraussagen über die mögliche Einbeziehung des zyklischen AMP in den Wirkungsmechanismus z.B. des Pentagastrin oder anderer Hormone bezüglich der Magen- und Speichelsekretion des Menschen zu machen. Eine Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte daher sein, die Rolle des zyklischen AMP bei der Speichel- bzw. Magensekretion des Menschen genauer zu untersuchen.

Von besonderem Interesse war hierbei:

1. die Wirkung von Pentagastrin, Motilin und Doryl^R (Carbachol) auf den Zyκλο-AMP-Gehalt des Speichels bzw. Magensafts.
2. Das Verhältnis der einzelnen salivären bzw. gastralen Sekretionsparameter zum Zyκλο-AMP-Gehalt des Speichels bzw. Magensafts.

Außerdem sollte die Frage einer möglichen Neutralisation der im Magen - mit und ohne Pentagastrin-stimulation - gebildeten Säure durch das unter vergleichbaren Bedingungen sezernierte saliväre Bikarbonat untersucht werden.

II. MATERIAL UND METHODEN

1. Patientengut

Die nachfolgenden im einzelnen beschriebenen Untersuchungen wurden an magengesunden Patienten der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen durchgeführt. An drei aufeinanderfolgenden Tagen wurden bei jedem Probanden mit Pentagastrin, Motilin und Doryl^R (Carrbachol) folgende Untersuchungen durchgeführt:

- a) Magensekretionsanalyse basal-stimuliert,
- b) Speichelsekretionsanalyse basal,
- c) Speichelsekretionsanalyse stimuliert.

Zu der Versuchsreihe mit Doryl^R wurde zusätzlich an einem anderen Tag zum Vergleich eine Magensekretionsanalyse mit maximaler Pentagastrin-Stimulation durchgeführt.

2. Magensaftgewinnung

Die Magenausheberung wurde nach mindestens 10-stündiger Nahrungskarenz durchgeführt. Nach Einführung der Magensonde wurde der Magensaft in Linksseitenlage des Patienten mit einem Gastromaten kontinuierlich abgesaugt, wobei darauf zu achten war, daß der Speichel, wenn nötig, nicht geschluckt, sondern expeloriert wurde (67). Die erste 15-Minuten-Portion des Nüchternsekrets wurde verworfen, die basale Sekretion anschließend in 15-Minuten-Portionen über eine Stunde gesammelt. In den darauffolgenden 90 Minuten wurde die Magensekretion durch kontinuierlich (0,5 ml/min.) intravenös in-

fundiertes Pentagastrin (1,5 µg Pentagastrin/kg KG/h in 0,9 % NaCl-Lösung) bzw. 13-NLE-Motilin (0,1 µg/kg KG/h in 0,9 % NaCl-Lösung) stimuliert. Bei der Stimulation mit Doryl^R wurde 0,5 mg Doryl^R subkutan verabreicht. Das stimulierte Sekret wurde ebenfalls in 15-Minuten-Portionen aspiriert.

3. Magensekretionsanalysen

3.1 Säurebestimmung

Unter Verwendung des Indikators Phenolrot (Umschlagspunkt: pH 7,0 - 7,4) wurden jeweils 10 bzw. 5 ml Magensaft mit n/10 NaOH titriert (67).

Die sezernierte Säuremenge berechnet sich dabei als Produkt aus der Salzsäurekonzentration (mval/l) und Magensaftvolumen (ml) (68).

Der BAO (basal acid output) ergibt sich als Summe der Säuremenge (mval) in den vier 15-Minuten-Portionen, der PAO (peak acid output) als Summe der beiden höchsten aufeinanderfolgenden Säuremengen, multipliziert mit dem Faktor zwei (68).

Zur chemischen Analyse wurden gleiche Teile Magensaft aus den einzelnen Portionen - getrennt nach basalem und stimuliertem Sekret - vereinigt und mit dem Potter-Elvehjem-Homogenisator aufbereitet.

3.2.1 Volumenkorrektur mit Markerlösung (^{14}C -Poly- äthylenglykol)

Durch einen zusätzlichen dünnen Polyvinylkatheter (innerer Durchmesser 1 mm), der an der eigentlichen Magensonde befestigt war, wurde kontinuierlich eine nicht absorbierbare Lösung von ^{14}C -markiertem Polyäthylenglykol - 1 μC Aktivität in 50 ml physiologischer NaCl-Lösung (12 ml/h) - in den Magen gebracht. Durch Messung der Aktivität des Magensaftes der Basalphase und der einzelnen 15-Minuten-Portionen der stimulierten Phase konnte so das wahre Sekretionsvolumen ermittelt werden. Es konnte so die unter konventionellen Aspirationsbedingungen nicht erfaßte Menge an Magensaft, die während der gesamten Untersuchung durch den Pylorus den Magen verließ, erfaßt werden (27, 53). Der Versuch, auch während der Basalphase die Aktivität in den einzelnen 15-Minuten-Portionen getrennt zu messen, gelang wegen zu kleiner Volumina nicht.

3.2.2 Volumenkorrektur mit Phenolrot-Lösung (27, 53)

Um die Messung von zyklischem AMP im Magensaft, die auf einer Isotopenverdünnungsmethode beruht, nicht durch radioaktive Markerlösung zu verfälschen, wurde bei diesen Versuchen die Volumenkorrektur mit der Phenolrotmethode durchgeführt.

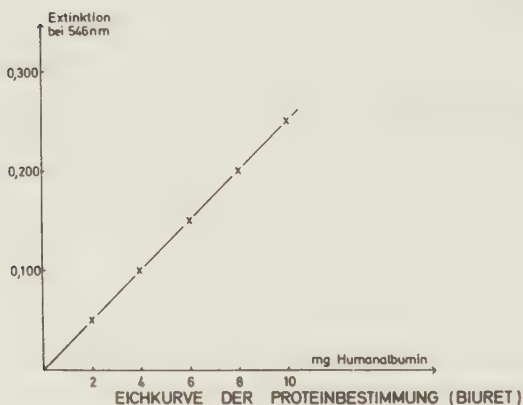
Ebenfalls durch einen dünnen, an der Magensonde befestigten Polyvinylschlauch wurde kontinuierlich (0,5 ml/min.) Phenolrot (40 mg/100 ml physiologischer Kochsalzlösung) in den Magen gebracht. Das Phenolrot wurde kolorimetrisch bestimmt. Proben (0,5 ml) aus der Basalphase und den einzelnen 15-Minuten-Portionen der stimulierten Phase wurden mit 10 M Borsäure-NaOH-Puffer (pH 9,2) (86) versetzt, bei

den Wellenlängen 520, 560 und 600 nm gemessen und dann die Korrekturformel von Allen (1) angewendet.

3.3 Proteinmessung

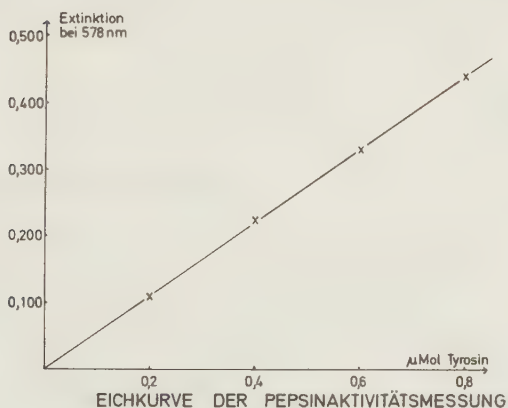
Die Proteinbestimmung wurde nach der Biuretmethode von Gornall et al. durchgeführt. Es wurde eine Reaktionslösung - bestehend aus 1,5 ml 50 %iger Trichlor-essigsäure, 0,5 ml aqua dest. und 8,0 ml Magensaft - hergestellt (44).

Nach 5-minütigem Zentrifugieren und anschließendem Verwerfen des Überstandes wurde der Niederschlag in 5,0 ml Biuret-Reagenz und 5,0 ml aqua dest. aufgelöst. Nach 10 Minuten erfolgte die photometrische Messung bei 546 nm gegen einen Leerwert aus 5,0 ml aqua dest. und 5,0 ml Biuret-Reagenz. Zur Überprüfung der Linearität von steigender Konzentration und Extinktion und zur Berechnung des Proteingehaltes des Magensafts wurde eine Eichkurve mit Humanalbumin als Standard angelegt.



3.4 Pepsinaktivitätsmessung

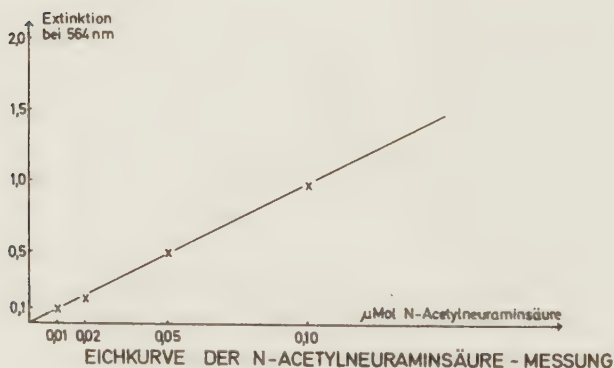
Die Pepsinaktivitätsmessung erfolgte nach der von Rick (75) überarbeiteten Methode von Anson (6). Im Reaktionsansatz wurden 5,0 ml frisch zentrifugierte Hämoglobinlösung (2 g Hämoglobin in 0,06 N HCl ad 100 ml), 0,99 ml 0,01 N HCl und 0,01 ml Magensaft bei 25 ° C inkubiert. Nach exakt 10 Minuten wurde die Reaktion durch die Zugabe von 10 ml 5 %iger Trichloressigsäure gestoppt und der entstandene Niederschlag abzentrifugiert. Zu 5,0 ml des Überstandes wurden 10 ml 0,5 N NaOH und 3 ml verdünntes Phenolreagenz (Phenolreagenz : aqua dest. = 1 : 2) gegeben. Nach 10 Minuten wurde die Farbintensität des Bestimmungsansatzes bei 578 nm gegen den Leerwert (Zugabe von 5 %iger Trichlorsäure vor der Inkubation) photometrisch gemessen. Mit einem Tyrosin-Standard wurde eine Eichkurve angelegt.



3.5 N-Azetylneuraminsäurebestimmung

Freie, gesamte und gebundene N-Azetylneuraminsäure (NANA) wurden nach Aminoff (5) bestimmt. Die Säurehydrolyse zur Gewinnung der Gesamt-NANA erfolgte nach der Methode von Warren (98). 0,5 ml des nativen bzw. hydrolysierten Magensafts und 0,25 ml Perjodat wurden nach 30-minütiger Inkubation bei 37 ° C mit 0,2 ml Natriumarsenit und 2,0 ml Thiobarbitursäure versetzt, 7,5 Minuten auf 100 ° C erhitzt und anschließend im Eisbad gekühlt. Nach Zugabe von 5,0 ml sauren Butanol (Butanol : 12 N HCl = 19 : 1) und Zentrifugieren der Mischung wurde in der Butanolphase bei 546 nm die Extinktion gegen einen Leerwert (0,5 ml Magensaft durch aqua dest. ersetzt) gemessen. Die Beeinflussung der photometrischen Messung durch die L-Fucose, die ebenfalls Bestandteil des Magensafts ist, wurde nicht berücksichtigt (46, 88).

Hydrolysiert wurden 3,6 ml Magensaft mit 0,4 ml 1 N Schwefelsäure eine Stunde im 80 ° C-Wasserbad. Die Eichkurve wurde mit einem N-Azetylneuraminsäure-Standard ausgeführt.



3.6 Die Zyko-AMP-Bestimmung erfolgt wie unter
5.4 beschrieben

4. Speichelgewinnung

Nach mindestens 10-stündiger Nahrungskarenz über Nacht wurde am Morgen das Nüchternsekret aller Mundspeicheldrüsen derart gewonnen, daß die Patienten ein Stück (ca. 5 x 5 cm) Plastikfilm (Parafilm^R) gleichmäßig kauten und den sezernierten Speichel vollständig in vorbereitete Glasgefäße spuckten. Der Speichel wurde jeweils in vier 15-Minuten - Portionen über eine Stunde gesammelt, wobei unter Basalbedingungen physiologische Kochsalzlösung (0,5 ml/min.) und einen Tag später während der Stimulationsphase physiologische Kochsalzlösung plus Pentagastrin (1,5 µg Pentagastrin/kg/h bzw. 13 NLE-Motilin (0,1 µg/kg/h) ebenfalls 0,5 ml/min. intravenös infundiert wurde. Doryl^R wurde als Stimulanz subkutan verabreicht (0,5 mg). Die Glaskölbchen mit den 15-Minuten-Portionen wurden sofort nach deren Gewinnung eiskühlt und bis zur weiteren Analyse bei dieser Temperatur gehalten. Das Volumen wurde mit Hilfe eines Meßzylinders auf eine Genauigkeit von $\pm 0,1$ ml bestimmt. Bevor der Speichel im einzelnen analysiert wurde, wurde er im Potter-Elvehjem-Homogenisator aufbereitet.

5. Speichelsekretionsanalysen

5.1. Bikarbonatbestimmung

In einem Reagenzglas wurde 1 ml des zu untersuchenden Speichels mit 1 ml 0,1 N H_2SO_4 , 1 ml aqua dest. und einem Tropfen Phenolrot (Umschlagspunkt 7,0 - 7,4) als Indikator versetzt. Nun ließ man zwei Minuten lang durch eine Glaskapillare Stickstoff durch das Untersuchungsgemisch strömen, um dann unter N_2 -Atmosphäre bei weiterströmendem N_2 die durch das Bikarbonat nicht neutralisierte

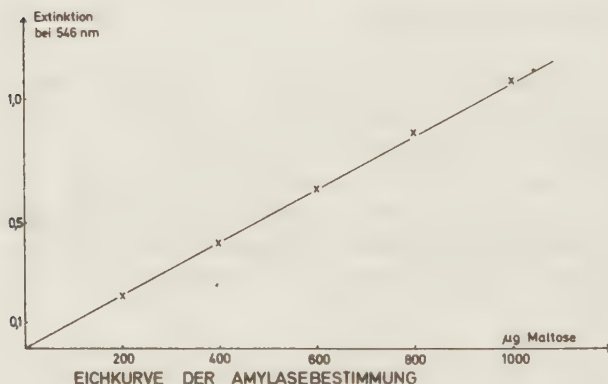
0,1 N H_2SO_4 mit 0,1 N NaOH zurückzutitrieren.

5.2. α -Amylasebestimmung

Die Bestimmung der Amylase erfolgte nach der Methode von Rick (76). Sie beruht auf dem Prinzip, das Stärke durch α -Amylase zu Bruchstücken hydrolysiert wird, deren reduzierende Hemiazetalgruppen mit 3,5-Dinitrosalizylsäure bestimmt werden (12, 93). Die Konzentration der entstandenen Nitroaminosalizylsäure (51) wird photometrisch gemessen. Sie entspricht der Konzentration der neugebildeten Endgruppen und damit direkt der Enzymaktivität.

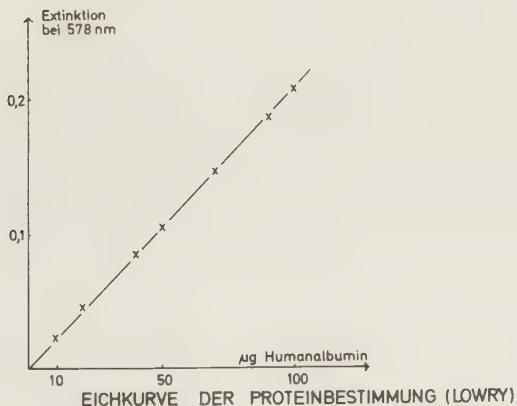
0,05 ml Speichel des mit 0,9 %iger NaCl im Verhältnis 1 : 200 verdünnten Speichels wurden mit 1 ml Phosphatpuffer (20 mM, pH = 6,9) und 1 ml 1 %iger Stärkelösung (1 g Stärke nach Zulkowsky in 100 ml Phosphatpuffer, pH gleich 6,9) genau 10 Minuten im 25 ° C-Wasserbad inkubiert und anschließend nach Versetzen mit 2 ml Dinitrosalizylsäure-Reagenz 5 Minuten im 100 ° C-Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen in kaltem Wasser wurde nach 20 - 60 Minuten die Extinktion gemessen.

Zur Ermittlung der Amylasekonzentration wurde eine Maltose-Eichkurve angelegt.



5.3 Proteinbestimmung (Lowry)

Die Proteinbestimmung erfolgte nach der Methode von Lowry (60). 2,0 ml Folin-Gebrauchslösung (0,5 ml einer 0,05 M Kupfersulfatlösung mit 0,5 ml einer 0,071 M Kalium-Natrium-Tartrat-Lösung mischen und mit einer 0,189 molaren Natriumkarbonat-Lösung ad 50 ml auffüllen) wurden mit 0,02 ml Speichel und 0,08 ml aqua bidest. versetzt und gut gemischt. Nach 10 Minuten wurden 0,2 ml Phenol-Reagenz nach Folin-Ciocalteu hinzugefügt. Nach frühestens 30 und spätestens 60 Minuten wurde bei 578 nm die Absorption gegen den Leerwert (2,0 ml Folin-Gebrauchslösung, 0,1 ml aqua bidest.) gemessen. Wegen der Empfindlichkeit dieser Methode wurden immer vier Ansätze mit einer Eiweißstandardlösung (1 mg Humanalbumin/ml physiologischer NaCl-Lösung) mitgeführt.



5.4. Bestimmung von Zyκλο-AMP

5.4.1 Speichelaufbereitung

1 ml Speichel wird mit 1,5 ml 5 %iger Trichloressigsäure versetzt, kurz geschüttelt und anschließend zentrifugiert. Der Überstand wird abpipettiert, in dickwandigen Reagenzgläsern mit wassergesättigtem Äther versetzt und eine Minute am Wirlimix geschüttelt. Nach 2-minütigem Zentrifugieren wird dann der Überstand (Äther + Trichloressigsäure) mit einer Pasteurpipette über die Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Um die Trichloressigsäure vollständig aus der Zyκλο-AMP-haltigen wässrigen Phase zu extrahieren, wird dieser Vorgang noch 4 x wiederholt. 1 ml der Zyκλο-AMP-haltigen Phase wird unter mäßiger Erwärmung (30°C) im Buchler-Exvaporator eingedampft und bei -20°C aufbewahrt. Für den unten beschriebenen Test wird der Rückstand in 0,4 ml aqua bidest. aufgenommen.

5.4.2 Messung des zyklischen AMP nach dem Radioisotopenverdünnungstest

Das zyklische AMP wurde nach einer Methode mit Zyκλο-AMP-bindendem Protein von Gilman (40), die erst kürzlich von Brown (19) modifiziert wurde, bestimmt.

Bestimmungsansatz:

	Leer- wert	Null- Stand.	S t a n d a r d			Probe
			2pMol	10pMol	20pMol	
Lsg. 1	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Lsg. 2	-	-	0,01	0,05	0,10	-
Probe	-	-	-	-	-	0,10
Lsg. 3	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Was- ser	0,13	0,11	0,10	0,06	0,01	0,01
gut mischen						
Lsg. 4	-	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02

Lösung 1: Acetat-Puffer 0,2 M, pH = 4

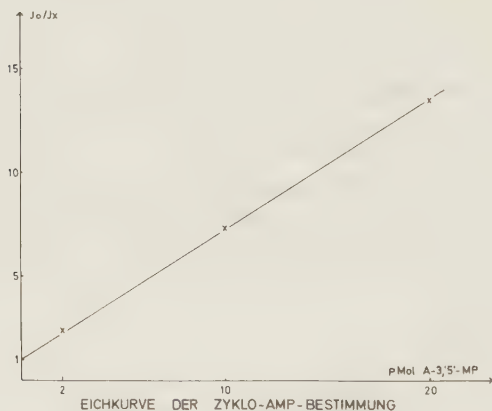
Lösung 2: 200 pMol Adenosin - 3', 5'-Monophosphat
in 1 ml aqua bidest

Lösung 3: 60 pMol (= 1,5 μ c 3 H-Adenosin-3', 5'-Mono-
phosphat in 1,5 ml aqua bidest.)

Lösung 4: Adenosin-3', 5'-MP-bindendes Protein in
1,2 ml aqua bidest

Lösung 5: Kalium-Phosphat-Puffer, 20 mM, pH = 6

Der Testansatz wird durch Schwenken sehr vorsichtig gemischt, wobei Schütteln und Schaumbildung unbedingt vermieden werden müssen und 100 Minuten bei 0°C stehen gelassen. Dann wird 1 ml eisgekühlte Lösung 5 hinzugegeben und über einen Millipore^R-Filter abfiltriert und noch mit 10 ml eisgekühlter Lösung 5 nachgewaschen. Die trockenen Filter werden in Szintillationsgefäßen mit 1 ml 2-(Methoxy)-Äthanol gelöst und mit 10 ml Szintillationslösung (200 ml 2-(Methoxy)-Äthanol und 800 ml einer Lösung von 8 g 2,5-Diphenyloxazol in 1000 ml Toluol) versetzt und die gut verschraubten Gläser 2 Minuten stark geschüttelt und anschließend im Szintillationsmeßgerät die Impulsrate gemessen. Aus den mitgeführten Standardproben wird eine Eichgerade erstellt, mit deren Hilfe die Zyκλο-AMP-Konzentrationen der einzelnen Proben ermittelt werden.



Die NANA-Bestimmung erfolgte wie unter 3.5 beschrieben.

6. Statistik

Mit Hilfe des Kolmogoroff-Smirnow-Tests wurde geprüft, welche Stichproben aus einer normal verteilten Grundgesamtheit stammen. Der Vergleich zweier normal verteilten Stichproben erfolgte mit dem t-Test bzw. mit dem t-Test für Paardifferenzen. Als entsprechende parameterfreie Tests wurden der U-Test oder Wilcoxon-Test angewandt.

Bei normal verteilten Stichproben wurden das arithmetische Mittel und die Standardabweichung, bzw. der Median und die Dezile (DZ_1 und DZ_9) angegeben.

Unterschiede im zeitlichen Verlauf wurden mit Hilfe des Friedman-Tests geprüft. Der Wilcoxon-Wilcox-Test ergab den Aufschluß darüber, welche Phasenverteilungen signifikant voneinander verschieden waren.

Zur Prüfung der Frage, ob zwischen den einzelnen Parametern (z.B. Zylo-AMP-'output' und Protein-'output') eine lineare Korrelation vorhanden ist, wurde die Rangkorrelationsanalyse nach Spearman durchgeführt (83).

Für alle statistischen Untersuchungen war als Grenzwert eine Irrtumswahrscheinlichkeit (IW) von $p < 0,05$ gefordert (99).

7. Reagentien und Geräte

7.1 Reagentien

N-Azetylneuraminsäure	Serva Feinbiochemica GmbH & Co, Heidelberg
Adenosin-3', 5'-Monophosphat-Proteinbindungstest	Boehringer, Mannheim GmbH Nr. 15289
Butanol-1 p.a.	E. Merck AG, Darmstadt
Doryl ^R (Carbachol)	E. Merck AG, Darmstadt
3,5-Dinitrosalizylsäure	E. Merck AG, Darmstadt
Hämoglobin vom Rind	Serva Feinbiochemica GmbH & Co, Heidelberg
Humanalbumin	Behringwerke AG Marburg/Lahn
13-Norleucin-Motilin (= 13-NLE-Motilin)	E. Wünsch, Max-Planck- Institut für Biochemie, Abtlg. Peptidchemie, München
D-(+)-Maltose	E. Merck AG, Darmstadt
Natriumchlorid 0,9 %ig	Drobenä E. Heinze, Berlin
Dinatriumhydrogenphosphat-2-Hydrat p.a.	E. Merck AG, Darmstadt
Natrium-Meta-Arsenit p.a.	E. Merck AG, Darmstadt
Natronlauge 0,1N, 0,5N, 1N, Titrisol	E. Merck AG, Darmstadt
Pentagastrin "Gastrodiagnost"	E. Merck AG, Darmstadt
Kaliumhydrogenphosphat p.a.	E. Merck AG, Darmstadt
Kalium-Natrium-Tartrat, p.a.	E. Merck AG, Darmstadt
Perjodsäure krist. p.a.	E. Merck AG, Darmstadt
Phenolreagenz Folin-Ciocalteu	E. Merck AG, Darmstadt
Phenolrot, Phenolsulfonphthal- einlösung	Serva GmbH, Heidelberg

¹⁴C-Polyäthylenglykol

New England Nuclear
Corporation, Boston,
Mass. USA

Salzsäure 0,01 N, 0,06 N,
0,02 N

0,5 N 12,5 N Titrisol
Stärke löslich nach

E. Merck AG, Darmstadt

Zulkowsky p.a.

E. Merck AG, Darmstadt

Schwefelsäure 1 N Titrisol

E. Merck AG, Darmstadt

2-Thiobarbitursäure

E. Merck AG, Darmstadt

Trichloressigsäure krist.p.a.

E. Merck AG, Darmstadt

L-(-)-Tyrosin für bioche-
mische Zwecke

E. Merck AG, Darmstadt

Weichselbaums Biuret-

Reagenz

E. Merck AG, Darmstadt

7.2 Geräte

Dauerinfusionsgerät Perfusor
71102

B. Braun, Melsungen

Flüssigkeitsszintillations-
spektrometer, Modell 3380

Packard, Frankfurt/M.

Gastromat nach Ottenjann

Oehler & Braun, Stuttgart

Magensonden, 5 mm Durchmesser

Fa.W. Rüsck, Rommelshausen
b. Stuttgart

Mechanische Pipetten Eppendorf

Netheler & Hinz, Hamburg

Photometer 1101 M, Eppendorf

Netheler & Hinz, Hamburg

Potter-Elvehjem-Homogenisator

B.Braun, Melsungen

Spektralphotometer

Carl Zeiss, Oberkochen

Waage, Cahn Model 4400,

Electrobalance

Cahn, Ventron Corp
Paramount, CA. USA

Waage, Mettler Typ H5

Spoerhase AG, Gießen

Wasserbad

J. Köttermann KG, Hönigsen

Zentrifuge, Typ UJ 3

Martin Christ, Osterode/Harz

III. ERGEBNISSE

1. Versuchsreihe mit Pentagastrin

1.1 Alter und Körpergewicht der Patienten

Das Kollektiv der Patienten dieser Versuchsreihe, in der bei jedem Probanden eine Magen-und Speichelsekretionsanalyse durchgeführt wurde, bestand aus sechs Frauen und einem Mann. Das Durchschnittsalter betrug $43,4 \pm 10,5$ Jahre. Der mittlere Wert des Körpergewichts lag bei $60,4 \pm 17,8$ kg.

1.2. Magensekretionsanalysen

1.2.1 Volumina/h gemessen - korrigiert mit Hilfe von ^{14}C -Polyäthylenglykol-Markerlösung

Tabelle 1

	Basal	Stim.
gemessen ml/h:	$77,3 \pm 16,1$	$192,3 \pm 87,1$
	$0,05 > p > 0,02$	
korrigiert ml/h:	$121,6 \pm 26,6$	$235,0^{\text{x})}$
		$130,1 - 420,9^{\text{xx})}$
	$0,05 > p > 0,02$	

x) = Median

xx) = Dezile ($\text{DZ}_1 - \text{DZ}_9$)

Unter Pentagastrinstimulation ist eine signifikante Volumenvermehrung des produzierten Magensaftes zu beobachten.

Von besonderem Interesse ist, daß sich der aspirierte und dann mit dem Meßzylinder gemessene Magensaft erheblich von dem wirklich produzierten unterscheidet. Mit Hilfe der ^{14}C -Polyäthylenglykol-Markerlösung konnte also auch jener Magensaft, der während der Versuchszeit den Magen durch den Pylorus verließ, erfaßt werden.

1.2.2 Säuresekretion

Tabelle 2

	Basal	Stim.
Konz. mval/l	21,5 $\pm$ 20,3	83,5 $\pm$ 21,0
	p < 0,01	
'output' mval/h	1,2 x)	19,6 $\pm$ 6,3
	0,8 - 6,8 xx)	
	0,05 > p > 0,02	

x) = Median

xx) = Dezile (DZ₁-DZ₉)

Sowohl die Konzentration als auch der 'output' zeigen nach Pentagastrin eine signifikante Steigerung.

1.2.3 Proteinbestimmung

Tabelle 3

	Basal	Stim.
Konz. mg/ml	$1,2 \pm 0,6$	$0,4 \pm 0,3$
	$p < 0,01$	
'output'	$159,8 \pm 84,6$	$89,5^x) \quad 19,8 - 424,2^{xx)}$
	$p > 0,05$	

x) = Median

xx) = Dezile ($DZ_1 - DZ_9$)

Die Konzentration nimmt unter stimulierten Bedingungen signifikant ab, während beim 'output' kein signifikanter Unterschied zu beobachten ist.

1.2.4. Pepsinaktivitätsbestimmung

Tabelle 4

	Basal	Stim.
Konz. IU/ml	$18,8 \pm 15,0$	$28,1 \pm 15,0$
	$0,05 > p > 0,01$	

'output' IU/h $2320,4 \pm 1682,9$ $5381,6^{x)}$
 $4791,8 - 14198,0^{xx)}$

$0,05 > p > 0,02$

x) = Median

xx) = Dezile (DZ_1 - DZ_9)

Unter stimulierten Bedingungen nehmen sowohl die Pepsinkonzentration als auch der 'output'/h signifikant zu.

1.2.5 N-Azetylneuraminsäure (NANA)-Bestimmung

Tabelle 5

	Basal	Stim.
	Freie NANA	
Konz. $\mu\text{Mol/ml}$	$0,03 \pm 0,01$	$0,01 \pm 0,004$
	$p < 0,01$	
'output' $\mu\text{Mol/h}$	$4,37 \pm 1,28$	$3,52 \pm 1,85$
	$p > 0,05$	

	Basal	Stim.
Gesamt-NANA		
Konz. $\mu\text{Mol/ml}$	$0,25 \pm 0,04$	$0,09 \pm 0,03$
	$p < 0,01$	
'output' $\mu\text{Mol/h}$	$34,60 \pm 9,32$	$27,35 \pm 21,01$
	$p > 0,05$	
geb. NANA		
Konz. $\mu\text{Mol/ml}$	$0,20 \pm 0,03$	$0,07 \pm 0,04$
	$p < 0,01$	
'output' $\mu\text{Mol/h}$	$30,23 \pm 8,82$	$23,82 \pm 19,27$
	$p > 0,05$	

Die Konzentration der freien, gesamten und gebundenen NANA nimmt jeweils signifikant ab, während bei den 'outputs' keine signifikanten Veränderungen festzustellen sind.

1.3 Speichelsekretionsanalysen

1.3.1 Volumenbestimmung

Tabelle 6

	Basal	Stim.
Volumen ml/h	$42,8 \pm 9,1$	$38,0^{x)} \quad 28,0 - 78,0^{xx)}$

$$p > 0,05$$

x) = Median

xx) = Dezile (DZ_1 - DZ_9)

Das Pentagastrin hat auf die Volumina des von den Mundspeicheldrüsen gebildeten Sekrets keinen Einfluß.

1.3.2 Bikarbonatbestimmung

Tabelle 7

	Basal	Stim.
Konz. mval/l	$8,7 \pm 5,2$	$9,4 \pm 4,7$

$$p > 0,05$$

'output' mval/h	$0,3 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,3$
-----------------	---------------	---------------

$$p > 0,05$$

Pentagastrin führt bei der Bikarbonatproduktion der Mundspeicheldrüsen zu keiner signifikanten Veränderung.

1.3.3 Bestimmung der Amylaseaktivität

Tabelle 8

	Basal	Stim.
Konz. IU/ml	269 $\pm$ 141	208 $\pm$ 108
	0,05 > p > 0,01	
'output' μ Mol	12158 $\pm$ 7062	8727 $\pm$ 5376
	p > 0,05	

Bei der Amylase-Konzentration war unter stimulierten Bedingungen eine signifikante Abnahme zu beobachten. Die 'outputs' zeigten keine Veränderung.

1.3.4 Proteinbestimmung (Lowry)

Tabelle 9

	Basal	Stim.
Konz. mg/ml	2,2 x) 2,0-3,6 ^{xx)}	2,5 $\pm$ 0,6
	p > 0,05	
'outputs' mg/h	112,1 $\pm$ 38,2	101,6 $\pm$ 32,5
	p > 0,05	

x) = Median

xx) = Dezile (DZ₁-DZ₉)

Stimulation mit Pentagastrin bleibt auf den Protein-
gehalt des Speichels ohne Einfluß.

1.3.5 NANA-Bestimmung

Tabelle 10

	Basal	Stim.
Freie NANA		
Konz. $\mu\text{Mol/ml}$	$0,04 \pm 0,02$	$0,03 \pm 0,03$
	$p > 0,05$	
'output' $\mu\text{Mol/h}$	$1,90 \pm 1,60$	$1,30 \pm 1,10$
	$p > 0,05$	
Gesamt NANA		
Konz. $\mu\text{Mol/ml}$	$0,14 \pm 0,06$	$0,14 \pm 0,08$
	$p > 0,05$	
'output' $\mu\text{Mol/h}$	$6,05 \pm 2,54$	$5,56 \pm 2,58$
	$p > 0,05$	

	Basal	Stim.
Geb. NANA		
Konz. $\mu\text{Mol/ml}$	$0,10 \pm 0,05$	$0,11 \pm 0,06$
	$p > 0,05$	
'output' $\mu\text{Mol/h}$	$4,15 \pm 1,90$	$4,27 \pm 2,38$
	$p > 0,05$	

Pentagastrin hat auf den Gehalt des Speichels an N-Azet-
tylneuraminsäure keinen Einfluß.

1.3.6 Zyklo-AMP-Bestimmung

Tabelle 11

	Basal		Stim.	
Konz. pMol/ml	90	± 41	83	± 41
	$p > 0,05$			
'output' pMol/h	3904	± 1854	3131	± 1232
	$p > 0,05$			

Der unter Pentagastrininfusion gewonnene Speichel zeigt
keine Veränderung des Zyklo-AMP-Spiegels.

2. Versuchsreihe mit 13-NLE-Motilin

2.1 Alter und Körpergewicht der Patienten

Das Kollektiv der Patienten dieser Versuchsreihe, bei der jeweils eine Magen- und eine Speichelsekretionsanalyse durchgeführt wurde, bestand aus fünf Männern und einer Frau. Das Durchschnittsalter betrug $40,8 \pm 14,2$ Jahre. Der jüngste Patient war 25 Jahre, der älteste 63 Jahre alt. Das durchschnittliche Körpergewicht lag bei $67,8 \pm 11,0$ kg.

2.2 Magensekretionsanalysen

2.2.1 Volumina gemessen-korrigiert mit Hilfe von Phenolrot-Marker-Lösung

Tabelle 12

	Basal	Stim.
gemessen ml/h	$55,2 \pm 30,8$	$66,5 \pm 17,3$
	p > 0,05	
korrigiert ml/h	$111,5 \pm 19,6$	$101,7 \pm 15,2$
	p > 0,05	

Das Motilin hat keinen signifikanten Einfluß auf das Magensekretionsvolumen.

2.2.2 Säuresekretion

Tabelle 13

	Basal	Stim.
Konz. mval/l	$7,8 \pm 3,6$	$13,6 \pm 6,0$
	$0,05 > p > 0,01$	
'output' mval/h	$1,2 \pm 0,6$	$1,7 \pm 0,8$
	$0,10 > p > 0,05$	

Die Säurekonzentration zeigt unter stimulierten Bedingungen eine signifikante Zunahme, während der Säureoutput unverändert bleibt.

2.2.3 Proteinbestimmung (Biuret)

Tabelle 14

	Basal	Stim.
Konz. mg/ml	$1,7 \pm 0,4$	$1,8 \pm 0,6$
	$p > 0,05$	

	Basal	Stim.
'output' mg/h	273,2 ^{x)}	296,6 ± 172,4
	112,8 - 905,1 ^{xx)}	
	p > 0,05	

x) = Median

xx) = Dezile (DZ₁-DZ₉)

Auf die Proteinproduktion hat das Motilin keinen Einfluß.

2.2.4 Pepsinaktivitätsbestimmung

Tabelle 15

	Basal	Stim.
Konz. IU/ml	11 ± 6	19 ± 8
	0,05 > p > 0,01	
'output' IU/h	1714 ± 1044	2615 ± 1134
	0,05 > p > 0,025	

Sowohl die Konzentration als auch der 'output' steigen signifikant an.

2.2.5 N-Azetylneuraminsäure(NANA)-Bestimmung

Tabelle 16

	Basal	Stim.
Freie NANA		
Konz. $\mu\text{Mol/ml}$	$0,02 \pm 0,007$	$0,02 \pm 0,003$
	$p > 0,05$	
'output' $\mu\text{Mol/h}$	$3,85 \text{ x)}$	$2,83 \pm 0,42$
	$2,91 - 60,07 \text{ xx)}$	
	$p > 0,05$	
Gesamt NANA		
Konz. $\mu\text{Mol/ml}$	$0,23 \pm 0,07$	$0,14 \pm 0,05$
	$0,05 > p > 0,01$	
'output' $\mu\text{Mol/h}$	$32,46 \pm 9,08$	$18,90 \pm 4,96$
	$0,01 > p > 0,005$	
Geb. NANA		
Konz. $\mu\text{Mol/ml}$	$0,20 \pm 0,07$	$0,12 \pm 0,05$
	$p < 0,05$	
'output' $\mu\text{Mol/h}$	$25,53 \pm 9,31$	$16,06 \pm 5,10$
	$0,02 > p > 0,01$	
x) = Median xx) = Dezile ($DZ_1 - DZ_9$)		

Unter Motilinstimulation ist bei der freien NANA keine signifikante Veränderung feststellbar. Die gebundene NANA, und damit auch die Gesamt-NANA nehmen jedoch signifikant ab.

2.2.6 Zyklo-AMP-Bestimmung

Tabelle 17

	Basal	Stim.
Konz. pMol/ml	88 $\pm$ 17	90 $\pm$ 26
	0,50 > p > 0,40	
'output' pMol/h	12418 $\pm$ 2620	11877 $\pm$ 3667
	0,80 > p > 0,70	

Das Motilin beeinflusst den Zyklo-AMP-Gehalt des Magensafts nicht.

2.3. Speichesekretionsanalysen

2.3.1 Volumenbestimmung

Tabelle 18

	Basal	Stim.
Volumen ml/h	53,3 $\pm$ 16,4	50,8 $\pm$ 19,6
	0,70 > p > 0,60	

Auf das Volumen des stündlich gebildeten Speichels hat das Motilin keinen Einfluß.

2.3.2 Bikarbonatbestimmung

Tabelle 19

	Basal	Stim.
Konz. mval/l	9,9 $\pm$ 8,8	9,0 $\pm$ 8,8
	p > 0,05	
'output' mval/h	0,6 $\pm$ 0,6	0,5 $\pm$ 0,6
	0,2 > p > 0,10	

Das Motilin beeinflußt den Gehalt an Bikarbonat im Speichel nicht.

2.3.3 Bestimmung der Amylaseaktivität

Tabelle 20

	Basal	Stim.
Konz. IU/ml	148 $\pm$ 136	164 $\pm$ 191
	p > 0,05	
'output' IU/h	7267 $\pm$ 6136	2908 ^{x)} 1368 - 19622 ^{xx)}
	p > 0,05	

x) = Median,

xx) = Dezile (DZ₁-DZ₉)

Die Amylaseaktivität ändert sich unter Motilineinwirkung nicht.

2.3.4 Proteinbestimmung (Lowry)

Tabelle 21

	Basal	Stim.
Konz. mg/ml	1,7 $\pm$ 1,1	1,1 $\pm$ 0,5
	p > 0,05	
'output' mg/h	173,2 $\pm$ 112,3	296,6 $\pm$ 172,4
	p > 0,05	

Auch der Proteingehalt bleibt unter Motilinstimulation unverändert.

2.3.5 NANA-Bestimmung

Tabelle 22

	Basal	Stim.
	Freie NANA	
Konz. μ Mol/ml	0,04 $\pm$ 0,54	0,01 x) 0,004 - 0,182 xx)
	p > 0,05	

	Basal	Stim.
'output' $\mu\text{Mol/h}$	$2,22 \pm 1,90$	$1,80 \pm 1,94$
	$0,40 > p > 0,30$	
	Gesamt NANA	
Konz. $\mu\text{Mol/ml}$	$0,12 \pm 0,05$	$0,14 \pm 0,06$
	$p > 0,05$	
'output' $\mu\text{Mol/h}$	$5,96 \pm 1,60$	$6,12 \pm 2,91$
	$0,90 > p > 0,80$	
	Geb. NANA	
Konz. $\mu\text{Mol/ml}$	$0,07 \pm 0,04$	$0,08 \pm 0,01$
	$p > 0,05$	
'output' $\mu\text{Mol/h}$	$3,74 \pm 1,69$	$4,32 \pm 1,99$
	$0,40 > p > 0,30$	

x) = Median

xx) = Dezile (DZ_1 - DZ_9)

Das Motilin übt einen Einfluß auf die freie und gebundene und somit auch auf die Gesamt-NANA nicht aus.

2.3.6 Zyklo-AMP-Bestimmung

Tabelle 23

	Basal	Stim.
Konz. pMol/ml	68 $\pm$ 32	63 $\pm$ 21
	0,60 > p > 0,50	
'output' pMol/h	3955 $\pm$ 2734	2271 $\pm$ 1683
	p > 0,05	

Auch auf den Zyklo-AMP-Gehalt ist kein Einfluß des Motilin feststellbar.

3. Versuchsreihe mit Doryl^R (Carbachol)

3.1 Alter und Körpergewicht der Patienten

Das Kollektiv der Patienten bestand aus sechs Männern. Das Durchschnittsalter betrug 37,2 $\pm$ 9,1 Jahre. Der älteste Patient war 46, der jüngste 21 Jahre alt. Das durchschnittliche Körpergewicht betrug 71,5 $\pm$ 12,7 kg.

3.2 Magensekretionsanalysen

Bei jedem Patienten wurde neben der Magensekretionsanalyse mit Doryl^R (Carbachol) zum Vergleich eine Sekretions-

analyse mit Pentagastrin als Stimulanz durchgeführt.
Gemessen wurden hier nur die Volumina und die Säure-
produktion. Da durch Pentagastrin (Dosis 1,5 ug/kg KG/h)
eine maximale Stimulation zu erzielen ist, konnte die Do-
ryl^R-Stimulation im Vergleich hierzu richtig eingeschätzt
werden.

3.2.1 Volumina

Tabelle 24

Doryl ^R (Carbachol)		
	Basal	Stim.
gemessen ml/h	65,9 $\pm$ 54,5	129,5 $\pm$ 46,5
	0,01 > p	
korrigiert ml/h	102,0 $\pm$ 43,4	159,9 $\pm$ 44,2
	0,05 > p > 0,01 x)	
Pentagastrin		
	Basal	Stim.
gemessen ml/h	78,0 $\pm$ 46,3	273,8 $\pm$ 84,2
	p < 0,01	

korrigiert ml/h	118,3 ± 49,2	259,7 ± 70,7
	p < 0,01	

Bei den gemessenen und den durch Markerkorrektur (Phenolrot) erhaltenen Volumina zeigt sich unter Doryl^R- bzw. Pentagastrinstimulation eine signifikante Zunahme.

3.2.2 Säuresekretion

Tabelle 25

	Doryl ^R (Carbachol)	
	Basal	Stim.
Konz. mval/l	31,3 ± 37,6	29,8 ± 20,6
	p > 0,05	
'output' mval/h	4,8 ± 4,8	6,1 ± 5,0
	p > 0,05	

Pentagastrin

Konz. mval/l	28,9 ± 21,9	95,7 ± 17,8
--------------	-------------	-------------

p < 0,01

'output' mval/h	5,8 ± 4,1	28,6 ± 8,4
-----------------	-----------	------------

p < 0,01

Unter Doryl^R-Stimulation bleiben sowohl die Säurekonzentration als auch der Säure-'output' unverändert.

Unter Pentagastrin tritt eine signifikante Zunahme dieser beiden Parameter ein.

3.3 Speichelsekretionsanalysen

Das Basalsekret wurde über eine Stunde gesammelt und durch Division der Wert einer 15-Minuten-Portion (I) berechnet. Nach der subkutanen Stimulation mit 0,5 mg Doryl^R wurde das Speichelsekret in vier 15-Minuten-Portionen (II - V) gesammelt und in jeder einzelnen Portion sämtliche Parameter bestimmt. Mit Hilfe der Statistik wurden aus den jeweils entsprechenden 15-Minuten-Portionen der sechs Patienten die Mittelwerte mit Standardabweichung bzw. die Mediane mit den Dezilen (DZ₁ und DZ₉) ermittelt und anschließend durch Vergleich der einzelnen 15-Minuten-Portionen untereinander im Friedman-Test bzw. Wilcoxon-Test eventuelle signifikante Veränderungen der einzelnen Parameter in den Portionen I - V festgestellt.

I	:	Basalphase	
II	:	erste 15-Minuten-Portion	} Stimmulationsphase
III	:	zweite 15-Minuten-Portion	
IV	:	dritte 15-Minuten-Portion	
V	:	vierte 15-Minuten-Portion	

Für signifikante Unterschiede wird wiederum $p < 0,05$ gefordert.

3.3.1 Volumina

Tabelle 25

		ml
Basalphase I	5,3 x)	2,7 - 8,8 xx)
Stim.-Phase		
II	9,2 x)	3,5 - 15,0 xx)
III	21,6 ± 2,8	
IV	18,4 ± 3,3	
V	14,5 ± 1,2	

x) = Median

xx) = Dezile (DZ₁-DZ₉)

Signifikante Unterschiede:

III/I $p < 0,01$ IV/I $p < 0,01$

III/II $0,05 > p > 0,01$

Nach Doryl^R-Stimulation nimmt das Speichelvolumen signifikant zu. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen den Portionen III/I, IV/I und III/II.

3.3.2 Bikarbonatbestimmung

Tabelle 26

	Konz. mval/l	'output' mval/15 min.
Basalphase		
I	11,0 x) 4,0 - 17,0 xx)	0,05 x) 0,01 - 0,15 xx)
Stim.-Phase		
II	10,5 x) 4,0 - 16,0 xx)	0,1 x) 0,02 - 0,24 xx)
III	22,8 ± 6,1	0,5 x) 0,2 - 0,7 xx)

IV	$25,8 \pm 7,9$	$0,4 \text{ } ^{\text{x})}$ $0,2 - 0,9 \text{ } ^{\text{xx})}$
V	$23,5 \pm 6,9$	$0,3 \text{ } ^{\text{x})}$ $0,2 - 0,5 \text{ } ^{\text{xx})}$

x) = Median

xx) = Dezile (DZ_1 - DZ_9)

Signifikante Unterschiede:

IV/I	$0,05 > p > 0,01$	IV/I	$p < 0,01$
IV/II	$p < 0,01$	III/I	$p < 0,01$
		IV/II	$0,05 > p > 0,01$

Unter Doryl^R-Stimulation nehmen sowohl Bikarbonatkonzentration als auch Bikarbonat-'output' signifikant zu. Signifikante Unterschiede bestehen bei der Konzentration zwischen den Portionen IV/I und IV/II, beim 'output' zwischen IV/I, III/I und IV/II.

3.3.3 Amylasebestimmung

Tabelle 27

	Konz. IU/ml	'output' IU/15 min.
Basalphase		
I	135 x) 43 - 488 xx)	701 x) 267 - 3184 xx)
Stim.-Phase		
II	169 x) 72 - 577 xx)	1556 x) 610 - 5195 xx)
III	248 x) 91 - 705 xx)	5816 x) 1922 - 13746 xx)
IV	264 x) 124 - 888 xx)	5289 x) 1873 - 16874 xx)
V	315 x) 147 - 993 xx)	4414 x) 1912 - 14407 xx)

x) = Median

xx) = Dezile (DZ₁-DZ₉)

'output' IU/15 min.

III/I p < 0,01

IV/I p < 0,01

V/I 0,05 > p > 0,01

III/II 0,05 > p > 0,01

Unter Doryl^R-Stimulation zeigen sich bei der Amylase-Konzentration keine signifikanten Veränderungen. Beim 'output' zeigen sich signifikante Zunahmen bei den 15-Minuten-Portionen III/I, IV/I, V/I und III/II.

3.3.4 Proteinbestimmung

Tabelle 28

	Konz. mg/ml	'output' mg/15 min
Basalphase		
I	2,0 x)	10,4 x)
	1,4 - 3,9 xx)	6,3 - 30,4 xx)
Stim.-Phase		
II	1,9 ± 0,6	15,4 x)
		7,9 - 37,5 xx)

III	$1,7 \pm 0,4$	$34,3 \text{ } ^x)$ $27,2 - 64,5 \text{ } ^{xx)}$
IV	$2,0 \pm 0,5$	$35,4 \text{ } ^x)$ $19,9 - 62,6 \text{ } ^{xx)}$
V	$2,2 \pm 0,5$	$32,9 \pm 9,9$

$^x)$ = Median

$^{xx)}$ = Dezile ($DZ_1 - DZ_9$)

III/I $p < 0,01$

IV/I $p < 0,01$

V/I $0,05 > p > 0,01$

Doryl^R hat auf die Proteinkonzentration keinen Einfluß.
Bei den 'outputs' sind signifikante Zunahmen bei den jeweiligen 15-Minuten-Portionen III/I, IV/I und V/I feststellbar.

3.3.5 N-Azetylneuraminsäure (NANA) -Bestimmung

Tabelle 29

Freie NANA			
	Konz. $\mu\text{Mol/ml}$	'output' $\mu\text{Mol/15 min.}$	
Basalphase			
I	0,04 x)	0,21 x)	
	0,02 - 0,07 xx)	0,11 - 0,37 xx)	
Stim.-Phase			
II	0,01 x)	0,16 x)	
	0,01 - 0,05 xx)	0,09 - 0,34 xx)	
III	0,009 $\pm$ 0,002	0,18 $\pm$ 0,05	
IV	0,007 $\pm$ 0,002	0,13 $\pm$ 0,02	
V	0,008 $\pm$ 0,002	0,12 $\pm$ 0,02	
I/III	0,05 $\rangle$ p $\rangle$ 0,01	I/IV	0,05 $\rangle$ p $\rangle$ 0,01
I/IV	p $\langle$ 0,01	I/V	p $\langle$ 0,01
I/V	0,05 $\rangle$ p $\rangle$ 0,01	III/V	0,05 $\rangle$ p $\rangle$ 0,01
II/IV	0,05 $\rangle$ p $\rangle$ 0,01		

Geb. NANA

Basalphase

I	0,07 x)	0,39 x)	
	0,04 - 0,14 xx)	0,110 - 1,25 xx)	

Stim.-Phase

II	0,10 x) 0,07 - 0,16 xx)	1,17 x) 0,25 - 2,46 xx)
III	0,15 $\pm$ 0,04	3,23 x) 1,82 - 4,45
IV	0,15 $\pm$ 0,05	2,90 x) 1,41 - 4,23 xx)
V	0,16 $\pm$ 0,04	2,39 $\pm$ 0,71

I/V $p < 0,01$ I/III $p < 0,01$

I/III $0,05 > p > 0,01$ I/IV $p < 0,01$

II/III $0,05 > p > 0,01$

x) = Median

xx) = Dezile (DZ_1 - DZ_9)

Bei der freien NANA haben wir unter Doryl^R-Stimulation eine signifikante Abnahme sowohl der Konzentration bei den Vergleichspaaren I/III, I/IV, I/V und II/IV als auch des 15-minütigen 'outputs' bei I/IV, I/V und III/V beobachtet.

Bei der gebundenen NANA sind die Verhältnisse genau umgekehrt: eine signifikante Zunahme der Konzentration bei I/V und I/III und des 'outputs' bei I/III, I/IV und II/III.

3.3.6 Zyklo-AMP-Bestimmung

Tabelle 30

	Konz. pMol/ml	'output' pMol/15 min.
Basalphase		
I	41 x)	213 x)
	31 - 86 xx)	93 - 761 xx)
Stim.-Phase		
II	41 x)	358 x)
	23 - 65 xx)	122 - 982 xx)
III	44 x)	976 x)
	22 - 125 xx)	438 - 3125 xx)
IV	63 x)	1186 x)
	48 - 175 xx)	765 - 4200 xx)
V	72 x)	955 x)
	30 - 150 xx)	435 - 2400 xx)

II/IV 0,05	> p	> 0,01	I/IV	p	< 0,01
			I/III	p	< 0,01
			I/V 0,05	p	< 0,01

x) = Median

xx) = Dezile (DZ₁-DZ₉)

Doryl^R bewirkt eine signifikante Zunahme der Zyklo-AMP-Konzentration bei den Vergleichspaaren II/IV und eine ebenfalls signifikante Zunahme des 'outputs' bei I/III, I/IV und I/V.

3.3.7 Korrelationsanalysen

Mit Hilfe der Korrelationsanalyse nach Spearman wurde nun geprüft, ob zwischen dem zyklischen AMP (Konzentration und 'output') und den übrigen Parametern Volumen, Bikarbonat, Protein, Amylase und NANA (Konzentration und 'output') eventuell eine lineare Korrelation besteht. Die Analysen wurden jeweils für die basale und stimulierte Phase durchgeführt. Für das Bestehen einer linearen Korrelation wurde $p < 0,05$ gefordert.

3.3.7.1 Basalphase - Konzentration

Tabelle 31

	Korrelations- koeffizient r_s	IW
Zyklo-AMP pMol/ml		
↗ Volumen ml	0,357	0,50 > p > 0,40
↗ Bikarbonat mval/l	0,764	0,05 > p > 0,025
↘ Amylase IU/ml	0,357	0,5 > p > 0,4
↘ Protein mg/ml	0,429	0,4 > p > 0,3
↘ freie NANA μMol/ml	-0,306	0,60 > p > 0,50
↘ geb. NANA μMol/ml	0,523	0,30 > p > 0,20

Bei den Konzentrationen der Basalphase besteht zwischen der Zyklo-AMP- und der Bikarbonat-Konzentration eine lineare Korrelation.

3.3.7.2 Basalphase-'output'/15 min.

Tabelle 32

	Korrelations- koeffizient r_s	IW
Volumen ml	0,821	0,005 > p > 0,001
Bikarbonat mval	0,893	0,01 > p > 0,005
Amylase IU	0,500	0,30 > p > 0,20
Protein mg	0,750	0,10 > p > 0,05
freie NANA μ Mol	0,250	0,70 > p > 0,60
geb. NANA μ /Mol	0,750	0,10 > p > 0,05

Bei den 'output'-Werten der Basalphase besteht zwischen dem Zyκλο-AMP und dem Volumen und Bikarbonat eine lineare Korrelation.

3.3.7.3 Stimulierte Phase - Konzentration

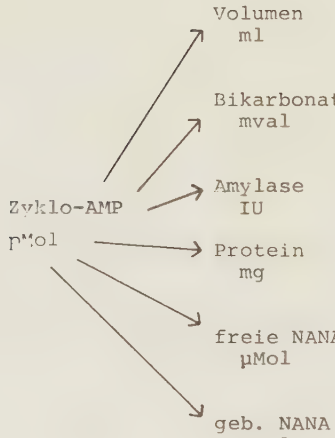
Tabelle 33

	Korrelations- koeffizient r_s	IW
Zyklo-AMP pMol/ml		
↗ Volumen ml	0,279	0,20 > p > 0,10
↗ Bikarbonat mval/ml	0,850	p < 0,001
↘ Amylase IU/ml	0,187	0,30 > p > 0,20
↘ Protein mg/ml	0,163	0,40 > p > 0,30
↘ freie NANA μMol/ml	-0,503	0,005 > p > 0,001
↘ geb. NANA μMol/ml	0,265	0,20 > p > 0,10

Bei den Werten der stimulierten Phase besteht eine lineare Korrelation zwischen der Zyklo-AMP- und der Bikarbonat-Konzentration und zwischen der Zyklo-AMP- und der geb. NANA-Konzentration eine negative lineare Korrelation.

3.3.7.4 Stimulierte Phase - 'output'/15 min

Tabelle 34

		Korrelations- koeffizient r_s	IW
	Volumen ml	0,687	$p < 0,001$
	Bikarbonat mval	0,902	$p < 0,001$
	Amylase IU	0,212	$0,30 > p > 0,20$
	Protein mg	0,660	$p < 0,001$
	freie NANA μMol	-0,078	$0,70 > p > 0,60$
	geb. NANA μMol	0,623	$p < 0,001$

Bei den 'outputs' der durch Doryl^R stimulierten Phase besteht zwischen Zyklo-AMP und Volumen, Bikarbonat, Protein und geb. NANA eine lineare Korrelation.

IV. DISKUSSION

1. Versuchsreihe mit Pentagastrin

1.1 Magensaftgewinnung

Zum kontinuierlichen Absaugen des Magensafts wurde die Linksseitenlage des Patienten mit Platzierung der Sonden-
spitze im Antrumbereich gewählt. Diese Methode ist für
den Patienten relativ angenehm und erfordert nicht die
schwer durchführbare Inversion des Schlauches, wie sie
bei der Platzierung im Fundusbereich nötig ist (52).
Das Absaugen des Magensaftes aus dem Antrumbereich er-
gibt nur 6 % weniger Volumen, ein statistisch nicht si-
gnifikanter Unterschied, der als systematischer Fehler
bei allen Untersuchungen in Kauf genommen wurde.
Die Veränderung der Lage der Magensonde während des Ver-
suches, wie z.B. Durchtritt durch den Pylorus wurde durch
Fixierung der Sonde im Mundwinkel vermieden.

Die bei der Anwendung dieser Sondentechnik eventuell ein-
tretende sogbedingte Aziditäts- und Sekretionsänderung,
hervorgerufen durch den Kontakt des Schlauches mit der
Magenwand, die von Schlotthauer und Nöller (87) diskutiert
wird, läßt sich nicht ausschließen. Ebenso konnte die ner-
vale Stimulation nicht vermieden werden (8).

1.2. Stimulation der Magensekretion

Seit Verwendung des synthetischen, gastrinähnlichen Pen-
tapeptids I.C.I. 50123 wurden verschiedene Dosen zur Er-
zielung einer maximalen oder nahezu maximalen Stimulation

erprobt. Konturek (55), Mason (61) und Classen (24) prüften Dosen von 0,024; 1,2; 6,0 $\mu\text{g/kg KG/h}$ bei kontinuierlicher intravenöser Stimulation und 6,0 $\mu\text{g/kg KG/h}$ subkutan bei routinemäßiger Magensekretionsanalyse.

Berstad (16) untersuchte die Pentagastrinwirkung bei Patienten mit normaler Schleimhaut und mit gastritischen Veränderungen. Er fand eine Stimulation mit 0,3 $\mu\text{g/kg KG/h}$ bei normaler Mukosa für ausreichend. Bei Gastritis führte aber nur die Gabe von 1,5 $\mu\text{g/kg KG/h}$ zu einer maximalen Stimulation, während ihm 7,5 $\mu\text{g/kg KG/h}$ unnötig hoch erschienen. Wir verwendeten 1,5 $\mu\text{g/kg KG/h}$, eine Dosis, die gut mit den von Mason (61) und Konturek (55) angegebenen Dosen (1,2 $\mu\text{g/kg KG/h}$) übereinstimmt.

1.3 Magensaft

Der Magensaft kann in zwei Komponenten eingeteilt werden (25). Der saure Anteil besteht aus der, zusammen mit dem Intrinsicfaktor in den Belegzellen produzierten Salzsäure und aus den den Hauptzellen entstammenden verschiedenen Pepsinarten. Der pH-Wert dieses Anteils des Magensaftes ist individuell verschieden. Die alkalische Komponente ist der interstitiellen Flüssigkeit ähnlich. Ihr gehört auch der Magenschleim an, der den Epithelzellen der Magenwand, den Nebenzellen des Halsteiles der Hauptdrüsen und den Pylorudrüsen entstammt (25).

Die Salzsäureproduktion, auf deren Messung bereits unter II.3.1 ausführlich eingegangen wurde, ist das Äquivalent zur Belegzellenmasse. So werden unter maximaler Stimulation von einer Milliarde Belegzellen im Durchschnitt 20 - 26 mval/h Salzsäure produziert (35, 68).

1.3.1 Volumenkorrektur

Will man die Volumina des gebildeten Magensaftes genau ermitteln, so bedarf das mit den Gastromaten ausgeheberte Volumen einer Korrektur, denn das auf diese Weise ermittelte Volumen berücksichtigt nicht den Magensaft, der während des Versuches den Magen durch den Pylorus verläßt. Außerdem ist es nicht möglich, jeweils den gesamten Saft abzusaugen. Es bietet sich daher die Möglichkeit an, durch Instillation einer bestimmten Menge Markerlösung und Bestimmung des Verdünnungskoeffizienten die gebildete Magensaftmenge genau zu errechnen. Das ^{14}C -Polyäthylenglykol (^{14}C -PEG) und das Phenolrot haben sich als nahezu gleichwertige Marker bewährt. Als wichtigste Eigenschaft muß die Nichtabsorbierbarkeit durch die Magenschleimhaut vorausgesetzt werden. Die Studien von Domschke et al. (27) haben gezeigt, daß weder ^{14}C -PEG noch Phenolrot vom menschlichen Magen in wesentlichen Mengen absorbiert werden und daß so beide für die Bestimmung der wahren Volumina des gebildeten Magensaftes nahezu gleich gut geeignet sind. Diese Ergebnisse sind schon früher in vergleichbaren Tierversuchen bestätigt worden (62, 85, 101).

Die Verwendung von ^{14}C -PEG hat jedoch gegenüber dem kolorimetrisch bestimmten Phenolrot Vorteile, da bei der Phenolrotbestimmung immer mit der Möglichkeit von Störungen durch vorhandene gefärbte Verbindungen gerechnet werden muß. Überdies ist das ^{14}C -PEG mit weniger Aufwand zu messen als das Phenolrot. Soll jedoch das Zyκλο-AMP im Magensaft bestimmt werden, so bietet die Phenolrotbestimmung Vorteile, da das radioaktive ^{14}C -PEG den Radioisotopenverdünnungstest zur Zyκλο-AMP-Bestimmung empfindlich stören kann.

Vergleicht man die in dieser Pentagastrin-Versuchsreihe mit ^{14}C -PEG korrigierten Volumina mit den gemessenen, so ist der Mittelwert der korrigierten Werte in der Basalphase um 46 ml und in der Stim.-Phase um 42 ml größer. Sowohl die gemessenen als auch die korrigierten Werte zeigen unter Pentagstrinstimulation eine signifikante Zunahme der Volumina.

1.3.2 Protein

Die Proteine des Magensaftes bestehen aus zwei Fraktionen, den Mukoproteinen und Eiweißsubstanzen, die dem Sekret des Oberflächenepithels entstammen (65).

Bei elektrophoretischer Aufschlüsselung erscheinen 8 - 11 trennbare Bestandteile, deren Natur z.T. noch nicht endgültig geklärt ist (42). Bekannte Proteine des Magensaftes sind: Pepsin, Albumin, Glykoproteine (Mukoproteine) und langkettige Polypeptide, die wahrscheinlich durch Pepsinwirkung und Säurehydrolyse aus anderen Magensaftkomponenten freigesetzt werden (42, 70).

Verschiedene Autoren (50, 65) vermuten direkte oder indirekte Beziehungen der einzelnen Komponenten zum Albumin, β - und γ -Globulin des Serums.

1.3.3 Pepsin

Die von der H^+ -Ionen Konzentration abhängige Pepsinaktivität kann in vier Bereiche eingeteilt werden:

- | | |
|-----------------|---|
| a) pH 1,5 - 2,5 | Maximale peptische Aktivität |
| b) pH 2,5 - 5,0 | 70 % Aktivität |
| c) pH 5,0 - 7,5 | keine oder nur geringe Aktivität, aber reversibler Aktivitätsverlust, d.h. keine Denaturation |
| d) pH > 7,5 | irreversible Denaturation (69) |

Diese im sauren Bereich optimale fermentative Wirkung hat jedoch auf die Spaltung und Resorption von Nahrungseiweiß insgesamt gesehen wenig Einfluß (49).

Bei Normazidität wird Protein im Magen abgebaut. Dabei kommt es, bedingt durch das saure Milieu zu längerer Verweildauer im Magen, bei Sub- oder Anazidität gelangt das Eiweiß nach kürzerer Zeit in den Dünndarm, wird dort gespalten und sofort im Jejunum resorbiert (49).

Unter Pentagastrin-Stimulation nimmt sowohl die Konzentration als auch der 'output' des Pepsin signifikant zu. Dies bedeutet, daß z.B. bei Nahrungsaufnahme nicht nur die Pepsinproduktion vermehrt, sondern auch - wie oben beschrieben - durch signifikante Zunahme der Säureproduktion und damit Abnahme des pH-Wertes die maximale peptische Aktivität erreicht wird. Eine maximale Spaltung der durch Nahrung aufgenommenen Proteine im Magen ist somit gewährleistet.

1.3.4 Glykoproteine und N-Azetylneuraminsäure

Wie bereits erwähnt, enthält der Magensaft Glykoproteine, die von Gottschalk (45) wie folgt definiert werden:

Es sind konjugierte Proteine, die als prosthetische Gruppen ein oder mehrere Heterosaccharide tragen, die kovalent an die Poypeptidketten gebunden sind. Die langkettigen, weitausgedehnten und miteinander über elektrisch geladene Kohlenhydrat-Seitenketten (89) in Wechselwirkung stehenden Moleküle sind von hoher Viskosität und erscheinen elektronenmikroskopisch als dünnfädiges Netzwerk, wobei jeder Faden aus einer variierenden Anzahl von Molekülen besteht, die intermolekular Seit-zu-Seit verknüpft sind. Die Wechselbeziehungen zwischen den Makromolekülen sind weitgehend von ihrer Tertiär- und Quartärstruktur und von den geladenen Endgruppen wie Sulfat- und Carboxylgruppen abhängig (45, 90).

Von den am Aufbau der Glykoproteine beteiligten Heterosacchariden nehmen die Sialinsäuren eine Sonderstellung ein. Zu den Sialinsäuren zählen die N-Azetylneuraminsäure, die N-Glykoly- und die N-O-Diazetylneuraminsäure, die durch ihre Lokalisation in terminaler Stellung der Heterosaccharide und durch die hohe Polarität ihrer Gruppen (Carboxyl-, Azetamido-, Hydroxyl-Gruppen) für die physikalischen Eigenschaften der Glykoproteine verantwortlich sind (31).

Bei unseren Untersuchungen unterschieden wir zwischen der in die Glykoproteine eingebauten gebundenen, der freien und der gesamten N-Azetylneuraminsäure als Summe beider Fraktionen.

1.3.5 Vergleich der einzelnen Paramter der basalen und der mit Pentagastrin stimulierten Phase

Wie unter III. 1.2. gezeigt, nehmen unter Pentagastrin-stimulation die Volumina des Magensafts, Salzsäure und

Pepsin (Konzentration und 'output') signifikant zu. Bei Protein und den drei NANA-Fraktionen nehmen die Konzentration jeweils signifikant ab, während die 'outputs' unverändert bleiben. Hier ist also durch Zunahme der Volumina lediglich ein Verdünnungseffekt feststellbar. Frühere Ergebnisse anderer Autoren konnten hierdurch bestätigt werden.

1.4. Speichelsekretion

1.4.1 Stimulationsmethode und Volumenbestimmung

Da die Speichelsekretion sowohl von nervalen Einflüssen als auch der Bewegung der Kaumuskeln stark abhängig ist, ist es nötig, eine Methode der Speichelgewinnung anzuwenden, die es einerseits erlaubt, die Sekretion unter basalen und stimulierten Bedingungen bei einem Patienten und mit anderen zu vergleichen. Mehrere Möglichkeiten sind bereits in der Literatur beschrieben worden. Emmelin (36) führte eine dünne Polyäthylensonde (äußerer Durchmesser 1,2 mm) in die Ausführungsgänge der Mundspeicheldrüsen ein und leitete so das Sekret ab.

Blum (18) beschrieb das 'forced spitting' als Methode der Wahl, bei der der Proband Wangenmuskeln und Zunge gegen die Zähne preßt und den durch 'squeezing' gewonnenen Speichel ausspuckt.

Für unsere Versuche erschien uns die Methode, wie sie bei Waissbluth (97) beschrieben ist, am günstigsten. Der Patient kaute während der gesamten Versuchsdauer gleichmäßig langsam ein Stück inertes Plastikmaterial (Parafilm^R) und spuckte den Speichel in vorbereitete, eisgekühlte Glas-kölbchen. Bei längeren Versuchen dürfte diese Methode für

den Patienten am angenehmsten und am wenigsten anstrengend sein.

1.4.2 Amylase

α -Amylase hydrolysiert α -1, 4-Glukanbindungen in Polysacchariden wie Amylose, Amylopektin und Glykogen sowie in deren Abbauprodukten mit einer Kettenlänge von mindestens drei D-Glucoseresten. Im tierischen Organismus kommt das Enzym vor allem in den Sekretgranula der Zellen der Speicheldrüsen und des Pankreas sowie in den Sekreten dieser Organe vor. Geringe Aktivitäten werden auch im Blut und Harn gefunden. Bei Schädigung von α -Amylase synthetisierenden Organen tritt das Enzym aus den Parenchymzellen aus und wird dann im Serum nachweisbar. Es wird angenommen, daß Iso-Amylasen in allen fünf elektrophoretisch trennbaren Serumeiweißfraktionen vorkommen (34).

Die mit den γ -Globulinen wandernden Amylasen aus Speicheldrüsen und Pankreas konnten durch Elektrophorese von Serum in Polyacrylamid getrennt und kristallisiert werden (11).

1.4.3 Vergleich der einzelnen Parameter (Volumen, Bikarbonat, Amylase, Protein, NANA und Zyko-AMP) basal - stimuliert

Pentagastrin bleibt auf die saliväre Konzentration und den 'output' von Bikarbonat, Protein, NANA (frei, gebunden, gesamt) und Zyko-AMP ohne Einfluß.

Eine wichtige Fragestellung der vorliegenden Arbeit, näm-

lich eine eventuelle Korrelation zwischen dem Zyko-AMP-Gehalt und den übrigen Parametern im Speichel aufzuzeigen, konnte durch diese Versuchsreihe nicht geklärt werden, da sowohl das zyklische AMP als auch die übrigen Parameter unter Pentagastrinstimulation keine signifikante Änderungen zeigten.

Bemerkenswert war die Tatsache, daß die sechste 15-Minuten-Portion nahezu den gleichen Gehalt an den einzelnen Parametern aufwies wie die erste, d.h. die Speicheldrüsen zeigten bezüglich der Produktion der einzelnen Parameter einschließlich des Volumens keinerlei Ermüdungserscheinungen.

1.4.4 Vergleich der salivären Bikarbonat - mit der gastralen Säureproduktion

Wie in der Literatur mehrfach bestätigt (37, 58, 59, 96), stellt das Bikarbonat den wichtigsten Puffer in der Speichelflüssigkeit im pH-Bereich 6,8 - 7,2 dar. Dem Kalziumphosphat, den Proteinen und Glykoproteinen kommt hingegen weniger Bedeutung zu. In der vorliegenden Arbeit sollte deshalb unter anderem geklärt werden, inwieweit das Bikarbonat des Speichels unter normalen und stimulierten Bedingungen die Salzsäure des Magens in wesentlichem Maße neutralisieren bzw. abpuffern kann. Vergleicht man nun die Werte, so sieht man, daß unter basalen Bedingungen 1,2 mval Salzsäure und 0,4 mval Bikarbonat unter stimulierten Bedingungen 19,6 mval HCl und 0,4 mval Bikarbonat jeweils pro Stunde produziert werden, wobei noch zu berücksichtigen ist, daß bei der als Basalphase bezeichneten Speichelsekretion bereits eine beträchtliche mechanische Stimulation vor-

liegt. Es muß also betont werden, daß das in den Speicheldrüsen gebildete Bikarbonat nicht wesentlich zur Neutralisation der Magensäure betragen kann und daß die durch Pentagastrin stimulierte Magensekretion - entsprechend der Situation bei appetitlicher Diät - nicht durch zunehmenden Speichelfluß kompensiert wird.

1.4.5 Vergleich des Protein- und NANA-Gehalts des Speichels mit dem des Magensafts

Betrachtet man die unter III. 1.2.3/5 und III. 1.3.4/5 angegebenen Werte, so sieht man bezüglich des Protein-'outputs' keine wesentlichen Unterschiede beim Speichel- und beim Magensaft. Der 'output'/h der gebundenen NANA im Magensaft ist siebenmal größer als der im Speichel; demnach könnten auch die salivären NANA-haltigen Schleimstoffe als Schutzfaktor der Magenschleimhaut ins Gewicht fallen. Bemerkenswert ist überdies das Verhältnis von gebundener zu freier NANA, das im Magensaft 6 : 1, im Speichel nur 2 : 1 beträgt.

2. Versuchsreihe mit 13-Norleucin-Motilin (13-NLE-Motilin)

Bei der Reindarstellung des gastrointestinalen Hormons Sekretin aus Duodenalextrakten des Schweins wurde als Nebenprodukt ein weiteres biologisch aktives Polypeptid, das Motilin, isoliert, das die motorische Aktivität von Antrum- und Fundus-Taschen des Hundemagens stimuliert und außerdem die gastrale Pepsinproduktion steigert (20).

Untersuchungen mit 13-Norleucin-Motilin (13-NLE-Motilin), einem synthetischen Analogon des Motilin und diesem biologisch gleichwertig (102), ergaben, daß das Polypeptid, intravenös appliziert, auch beim Menschen die Pepsinsekretion des Magens dosisabhängig erhöht (82).

Diese Untersuchungen konnten durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigt werden.

Wirkungen des 13-NLE-Motilins auf die Motilität des Gastrointestinaltrakts (GI-Trakt) wurden am isolierten Muskelstreifen des Kaninchens analysiert. Dabei reagierten die Präparate - je nach Ursprung aus den verschiedenen Etagen des GI-Trakts - unterschiedlich empfindlich auf das Polypeptid (33). Die beim Kaninchen feststellbare, im Vergleich zur Magenmuskulatur deutlich größere Ansprechbarkeit der Duodenalmuskulatur auf 13-NLE-Motilin steht im Einklang damit, daß beim Menschen die Magenentleerung, gemessen mit Radioisotopen, mit steigenden Dosen i.v. infundierten 13-NLE-Motilins infolge zunehmenden duodenogastraln Refluxes verzögert wird (48). Die genaue Analyse der in unserer Arbeit gemessenen bzw. korrigierten Magensaftvolumina bestätigen diese Ergebnisse. Während die korrigierten Volumina unter Motilin-Stimulation zwar keine signifikante, aber dennoch deutliche Abnahme zeigen, hat das ausgeheberte und gemessene Volumen eine deutlich zunehmende Tendenz; d.h. der Magensaft bleibt unter Motilineinwirkung länger im Magen.

Die Tatsache, daß mit der pepsinogenen Wirkung des 13-NLE-Motilins keine Zunahme der Säuresekretion einhergeht, steht im Einklang mit der ebenfalls in der vorliegenden Arbeit beobachteten Tatsache, daß der im Serum gemessene Gastrinspiegel durch 13-NLE-Motilin nicht verändert wird.

Um überdies herauszufinden, inwieweit das Zyklo-AMP bei

der durch 13-NLE-Motilin stimulierten Pepsinsekretion eine 'second messenger'-Rolle spielt, wurden gleichzeitig die Konzentration und der 'output' des Nukleotids im Magensaft gemessen. Bei zunehmender Pepsinsekretion blieben die Werte für das zyklische AMP sowohl im Magensaft als auch in der Magenschleimhaut selber unverändert. Um die Frage, welche Rolle das Zyκλο-AMP bei der Pepsinsekretion spielt, exakt zu beantworten, müßte man den Zyκλο-AMP-Gehalt direkt in den pepsinproduzierenden Zellen bestimmen.

Eine intravenöse Verabreichung von 13-NLE-Motilin führt beim Hund zu einer gleichzeitigen Zunahme der Aminopyrinclearance und der Pepsinsekretion der Magenschleimhaut (54). Man könnte deshalb annehmen, daß der pepsinogene Effekt von einer vermehrten Durchblutung der Magenschleimhaut herrührt.

Während beispielsweise beim Sekretin die Frage einer Beeinflussung der menschlichen Speichelsekretion noch nicht eindeutig geklärt ist (26, 63), bleibt das Motilin, wie die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, ohne Einfluß auf die Speichelsekretion, einschließlich der salivären Zyκλο-AMP-Produktion.

3. Versuchsreihe mit Doryl^R (Carbachol)

Eine wesentliche Frage der vorliegenden Arbeit, inwieweit das Zyκλο-AMP in den Mechanismus der Sekretion des Speichels und insbesondere der einzelnen darin enthaltenen Parameter verwickelt ist, konnte auf Grund der bis jetzt dargestellten Untersuchungen noch nicht beantwortet werden, da weder das Pentagastrin noch das 13-NLE-Motilin die Speichelsekretion in irgendeiner Art beeinflussen. Um der Lösung dieses Problems näher zu kommen, mußten die

weiterführenden Untersuchungen derart ausgerichtet sein, daß man entweder durch Stoffe, wie Phosphodiesterasehemmer (Koffein, Theophyllin) oder 5-Hydroxytryptamin versucht, den Zyκλο-AMP-Gehalt der Speicheldrüsen zu erhöhen, und in Abhängigkeit davon das Verhalten der übrigen Parameter beobachtet, oder durch Veränderung eines Parameters, z.B. Bikarbonat, das Verhalten der übrigen Parameter, speziell das Zyκλο-AMP, untersucht.

Es ist seit langem in der Literatur bekannt, daß Parasympathikomimetika, wie z.B. das Pilocarpin, die Speichelsekretion bei verschiedenen Tierspezies und beim Menschen stimulieren (43, 84, 100).

Durch Anwendung des ähnlich wirkenden, aber wesentlich besser verträglichen Doryl^R (Carbachol) stimulierten wir die Speichelsekretion (Volumen, Bikarbonat), um in Abhängigkeit davon das Verhalten des zyklischen AMP zu untersuchen.

Um die durch Doryl^R stimulierte Bikarbonatproduktion im Speichel mit der gleichzeitigen HCl-Produktion im Magen zu vergleichen, wurde jeweils eine Magensekretionsanalyse unter Doryl^R-Stimulation mit Bestimmung der Säureproduktion durchgeführt. Zusätzlich wurde noch beim gleichen Patienten eine Magensekretionsanalyse unter Pentagastrin-Stimulation durchgeführt, um ein Maß für maximale Stimulation zu besitzen.

Aus den vorliegenden Ergebnissen läßt sich ersehen, daß das unter Doryl^R-Stimulation gemessene Magensaftvolumen zwar signifikant zunimmt, aber im Durchschnitt nur ca. 60 % des unter maximalen Stimulationsbedingungen mit Pentagastrin erhaltenen Sekretvolumen beträgt.

Von besonderem Interesse ist aber die Tatsache, daß trotz

Zunahme des Sekretionsvolumens die Säureproduktion der Magenschleimhaut unverändert bleibt.

Vergleicht man weiter den durch Doryl^R verursachten signifikanten Anstieg des Bikarbonat-'outputs' im Speichel mit dem unter gleichen Bedingungen unverändert gebliebenen Säure-'output' im Magen, so muß auch hier wiederum festgestellt werden, daß das Speichel-Bikarbonat nicht wesentlich zur Neutralisierung der Magensalzsäure beitragen kann.

Besonders bemerkenswert erscheint bei der Analyse der unter III. 3.3 aufgeführten Ergebnisse die Tatsache, daß unter Doryl^R-Stimulation bei signifikanter Volumen-zunahme die Zunahme der Konzentration und des 'outputs' / 15 min. des Bikarbonats von einer gleichzeitigen Zunahme der Konzentration und des 'outputs' des Zyκλο-AMP begleitet wird. Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß zwischen der Bikarbonatproduktion und dem Zyκλο-AMP-Gehalt des Speichels ein Zusammenhang besteht. Ob nun das Zyκλο-AMP bezüglich der Bikarbonatsproduktion eine Vermittlerrolle für das Doryl^R oder ab das Zyκλο-AMP als Folge der durch Doryl^R verursachten steigenden Bicarbonatproduktion der Speicheldrüse zunimmt, kann auf Grund der vorliegenden Ergebnisse nicht definitiv geklärt werden. Weiterführende Untersuchungen sind dazu notwendig, indem man beispielsweise den Zyκλο-AMP-Gehalt durch Methylxanthine erhöht und in Abhängigkeit davon die Bikarbonatproduktion überprüft.

Von weiterem Interesse war auch das Verhalten der übrigen Sekretionsparameter im Speichel unter Doryl^R-Stimulation. Bei den Konzentrationen zeigten Amylase und Protein keine Veränderung, während die 'outputs' auf Grund des erheblich gesteigerten Sekretionsvolumens signifikant zunahmen.

Bei der freien NANA stellten wir sowohl bei der Konzentration als auch bei dem 'output' eine signifikante Abnahme fest. Bei der gebundenen NANA waren die Verhältnisse genau umgekehrt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß zwischen der salivären Konzentration des Zyklo-AMP und der Bikarbonatkonzentration eine positive lineare und der Konzentration der freien NANA eine negative lineare Korrelation besteht.

Bei den 'outputs' haben wir zwischen Zyklo-AMP und Volumen, Bikarbonat, Protein und gebundener NANA eine positive lineare Korrelation beobachtet.

Um die Frage, inwieweit das Zyklo-AMP bei der durch Doryl^R stimulierten salivären Bikarbonatsekretion eine Vermittlerrolle übernimmt, weiter abzuklären, müßte hier der Zyklo-AMP-Gehalt direkt in den bikarbonatbildenden Zellen der Speicheldrüsen, im Fall der durch 13-NLE-Motilin vermehrten gastralen Pepsinsekretion ausschließlich in den pepsinproduzierenden Zellen untersucht werden.

Selbst wenn auch hier keine Änderung des Zyklo-AMP-Spiegels feststellbar wäre, könnte man die Verwicklung des Nukleotids in den Wirkungsmechanismus der Hormone bzw. der entsprechenden stimulierenden Substanzen nicht mit Sicherheit ausschließen, wenn man annimmt, daß in der Zelle mehrere Zyklo-AMP-Pools, verteilt auf verschiedene, voneinander getrennte Kompartimente, existieren, von denen nur ein bestimmter für die Sekretion eines entsprechenden Parameters verantwortlich ist. Es könnten so lokale Schwankungen des Zyklo-AMP stattfinden ohne meßbare Änderung des Zyklo-AMP-Gehalts der gesamten Zelle.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Das in den Speicheldrüsen des Menschen gebildete Bikarbonat kann quantitativ nicht wesentlich zur Neutralisation der Magensäure beitragen. Die durch Pentagastrin stimulierte Magensekretion - Zunahme von Volumen, Salzsäure und Pepsin (Konzentration und 'output') bei gleichbleibender Produktion von Protein, N-Azetylneuraminsäure (frei, gebunden) und Zyκλο-AMP - die der Situation bei appetitlicher Diät entspricht, wird nicht durch zunehmenden Speichelfluß kompensiert. Das Pentagastrin bleibt nämlich auf die Speichelsekretion insgesamt und auch auf die einzelnen Sekretionsparameter - Volumen, Bikarbonat, Amylase, Protein, N-Azetylneuraminsäure und Zyκλο-AMP - ohne Einfluß. Selbst der durch das Parasympathikomimetikum Doryl^R (Carbachol) signifikant gesteigerte Bikarbonatgehalt des Speichels vermag nicht wesentlich zur Neutralisation der unter diesen Bedingungen nicht veränderten Säureproduktion des Magens beizutragen.

Die Untersuchungen mit 13-Norleucin-Motilin (13-NLE-Motilin), einem synthetischen Analogon des erstmals aus Duodenalextrakten des Schweins gewonnenen natürlichen Motilins und diesem biologisch gleichwertig, ergaben, daß dieses Polypeptid bei gleichbleibender Sekretionsrate der übrigen Parameter die gastrale Pepsinproduktion erhöht. Auf die Speichelsekretion hingegen bleibt das 13-NLE-Motilin ohne Wirkung.

Da das zyklische AMP im Magensaft und in der Schleimhaut des Magens unter 13-NLE-Motilin keine Veränderungen zeigte, scheint das Nukleotid bei der durch 13-NLE-Motilin stimulierten Pepsinsekretion keine Vermittlerrolle zu spielen.

Dagegen ergeben sich Hinweise auf eine mögliche Beteiligung des zyklischen AMP als Vermittler der durch Doryl^R stimulierten salivären Bikarbonatproduktion, denn die vermehrte Bikarbonatsekretion geht mit einer ebenfalls signifikanten Zunahme der Zyklo-AMP-Bildung einher.

IV. LITERATURVERZEICHNIS

1. Allen W.M.: A simple method für analyzing complicated absorption curves, of use in the colorimetric determination of urinary steroids. J. Clin. Endocrinol. 10:71 - 83, 1950.
2. Alonso D., Harris J.B.: Effects of xanthines and histamine on ion transport and respiration by frog gastric mucosa. Amer. J. Physiol. 208:18 - 23, 1965.
3. Amer M.S.: Amer. J. dig. Dis. 17:945 - 953, 1972.
4. Amer M.S., Mc Kinney G.R.: J. Pharmacol. exp. Ther. 183:535 - 548, 1972.
5. Aminoff D.: Methods for the quantitative estimation of N-acetylneuraminic acid and their application to hydrolysates of sialomucoids. Biochem. J. 81:384 - 392, 1961.
6. Anson M.L.: The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. J. gen. Physiol. 22:79 - 89, 1938.
7. Babad H., Ben - Zvi R., Bdolah A., Schramm M.:
The mechanism of enzyme secretion by the cell.
4. Effects of inducers, substrates and inhibitors on amylase secretion by rat parotid slices. Europ. J. Biochem. 1:96 - 101, 1967.
8. Baron J.H.: Gastric secretion in a healthy man 1949 - 1969. Lancet September 12:547 - 549, 1970.

9. Bdolah A., Ben-Zvi R., Schramm M.: Mechanism of enzyme secretion by the cell. II. Secretion of amylase and other proteins by slices of rat parotid gland.
Arch. Biochem. Biophysics 104:58 - 66, 1964.
10. Bdolah A., Schramm M.: The function of 3', 5'-cyclic AMP in enzyme secretion.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 18:452 - 454, 1965.
11. Berk J.E., Hayashi S., Searcy R.L., Hightower jr.N.C.:
Amer. J. dig. Dis. 2:695, 1966.
12. Bernfield P. in Colawick S.P. and Kaplan N.O.:
Methods in enzymology.
Academic Press, New York, Bd. I, 149, 1955.
13. Berridge M.J.: The role of 5-hydroxytryptamine and cyclic AMP in the control of fluid secretion by isolated salivary glands.
J. Exp. Biol. 53:171 - 186, 1970.
14. Berridge M.J., Prince W.T.: Transepithelial potential changes during stimulation of isolated salivary glands with 5-hydroxytryptamine and cyclic AMP.J.Exp.Biol. 56:139 - 153, 1972.
15. Bersimbaev R.I., Argutinskaya S.V., Salganik R.I.:
Experientia (Basel) 27:1389 - 1390, 1971.
16. Berstad A., Myren J.: Effect of graded doses of pentagastrin in patients with and without gastritis.
Gut 11:299 - 302, 1970.

17. Bieck P.R., Oates J.A., Robinson G.A., Adkins R.B.:
Amer. J. Physiol. 224:158 - 164, 1973.
18. Blum A.L., Makhoul G.M.: Determinants of salivary
response to mechanical stimulation. Gut 12:650 -
653, 1971.
19. Brown B.L., Albano J.D.M., Ekins R.P., Sgherzi A.M.,
Tampion W.: A simple and sensitive saturation
assay method for the measurement of adenosine -
3', 5'-cyclic monophosphate.
Biochem. J. 121:561 - 662, 1971.
20. Brown J.C. et al.: Can. J. Physiol. Pharmacol.
49:399, 1971.
21. Butcher R.W., Sutherland E.W.: Adenosine - 3', 5'-
phosphate in biological materials. I. Purifi-
cation and properties of cyclic 3', 5'-nucleo-
tide phosphodiesterase and use of this enzyme
to characterise adenosine 3', 5'-phosphate in
human urine.
J. biol. Chem. 237:1244 - 1250, 1962.
22. Case R.M., Harper A.A., Scratcherd T.:
Water and electrolyte secretion by the perfu-
sed pancreas of the cat.
J. Physiol. (London) 196:133 - 149, 1968.
23. Case R.M., Laundry T.J., Scratcherd T.: Adenosine-3',
5'-monophosphate (cyclic AMP) as the intracel-
lular mediator of the action of secretin on the
exocrine pancreas.
J. Physiol. (London) 204:45 - 47, 1969.

24. Classen M.: Magensekretionsanalyse mit Pentagastrin.
Dtsch. med. Wschr. 93:704 - 705, 1968.
25. Demling L.: Die Physiologie des Magens.
L. Demling, Der kranke Magen : 57 - 63,
Urban und Schwarzenberg, München/Berlin/Wien
1970.
26. Descos L., Lambert R., Minaire Y.: Comparison of
human salivary secretion in health and chronic
pancreatitis.
Digestion 9:76 - 77, 1973.
27. Domschke S., Demling J., Domschke W., Hacker J.,
Classen M., Demling L.:
Gastric nonabsorbable indicators in man:
A comparison of phenol red and polyethylene -
¹⁴C-glycol.
Scand. J. Gastroent. 8:17 - 19, 1973.
28. Domschke W., Classen M., Demling L.:
Circadian rhythmicity of gastric secretion and
cyclic 3', 5'-adenosinemonophosphate contents
of gastric mucosa in rats.
Scand. J. Gastroent. 7:39 - 41, 1972.
29. Domschke W., Domschke S., Classen M., Demling L.:
Glucocorticoids and gastric secretion: The
role of cyclic AMP.
Gastroent. 63:252 - 256, 1972.
30. Domschke W., Domschke S., Classen M., Demling L.:
Nature (Lond.) 241:454 - 455, 1973.

31. Domschke W., Domschke S., Classen M., Demling L.:
Some properties of mucus in patients with
gastric ulcer: The effect of treatment with
carbenoxolone sodium.
Scand. J. Gastroent. 7:647 - 651, 1972.
32. Domschke W., Domschke S., Rösch W., Classen M.,
Demling L.: Failure of pentagastrin to sti-
mulate cyclic AMP accumulation in human ga-
stric mucosa.
Scand. J. Gastroent. 9:467 - 471, 1974.
33. Domschke W., Strunz U., Mitznegg P., Ruppin H.,
Domschke S., Schubert E., Wunsch E., Jaeger E.,
Demling L.: 13-Norleucin-Motilin - Analyse der
Wirkungen auf den Gastrointestinaltrakt .
Die Naturwissenschaften 8:370, 1974.
34. Dreiling D.A., Janowitz H.D., Josephberg L.J.:
Ann. Int. Med. 58:235, 1963.
35. Elster K.: Die Morphologie des Magens, L.Demling,
Der kranke Magen:
1-12, Urban und Schwarzenberg, München/Berlin/
Wien, 1970.
36. Emmelin N., Muren A., Strömblad R.:
Acta Physiol. Scand., 1954
37. Ericsson Y.: Enamel-apatite solubility.
Acta odont. scandinav. 8:Supp.3, 1949.
38. Field M., Plotkin G., Silen W.: Cyclic AMP induced
secretion of chloride by rabbit ileum in vitro.
Gastroenterology 54:1233, 1968.

39. Gardner J.D., Peskin G.W., Cerda J.J., Brooks F.P.:
Alterations of in vitro fluid and electrolyte
absorption by gastrointestinal hormones.
Amer. J. Surg. 113:57 - 64, 1967.
40. Gilman A.G.: A protein binding assay for adenosine -
3', 5'-cyclic monophosphate.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 67:305 - 312, 1970.
41. Gingell J.C., Davies M.W., Shields R.:
Effect of a synthetic gastrin - like pentapeptide
upon the intestinal transport of sodium, potas-
sium and water.
Gut 9:111 - 116, 1968.
42. Glass G.B.J., Ishmori A.: Passage of albumin into
the stomach.
Amer. J. dig. Dis. 6:103 - 133, 1961.
43. Gomez Alonso de la Sierra B.: Action of some ganglion-
stimulating substances on the secretion of saliva
from the submandibular gland.
Brit. J. Pharmacol. 18:501 - 509, 1962.
44. Gornall A.G., Bordawill C.J., David M.M.:
Determination of serum proteins by means of
biuret reaction.
J. biol. Chem. 177 : 751 - 766, 1949.
45. Gottschalk A.: Glycoproteins. BBA Library Vol. 5,
Their Composition, Structure and Function.
Elsevier Publishing Company, Amsterdam, London,
New York, 1966.

46. Häkkinen J., Hartiala K., Terho T.:
The fractionation and characterisation of
the acid polysaccharides in human gastric
juice. Acta Chem. Scand 19:797 - 799, 1965.
47. Harris J.B., Alonso D.: Stimulation of the gastric
mucosa by adenosine - 3', 5'-monophosphate.
Fed. Proc. 24 : 1368 - 1376, 1965.
48. Hinder R.A. et al.: Gut 14:113, 1973.
49. Hemmati A.: Magensalzsäure und Eiweißresorption.
Dtsch. med. Wschr. 93:2341 - 2342, 1968.
50. Henning N., Kinzlmeier H., Demling L.:
Über die elektrophoretisch darstellbaren Pro-
teine normaler und pathologischer Magensäfte.
Münch. Med. Wschr. 15 : 423 - 426, 1953.
51. Hostetter F., Borel E., Deuel H.: Helv. Chim.
Acta 34 : 3132, 1951.
52. Ivey K.J., Den Besten L.: Gastric volumes aspirated
from antrum and fundus in man.
Dig. Dis. 16 - 123 - 126, 1971.
53. Ivey K.J., Schedl H.P.: Gastric nonabsorbable indi-
cators for studies in man. Gastroenterology
59 : 234 - 239, 1970.
54. Koch H., Domschke S., Belohlavek D., Domschke W.,
Wünsch E., Jaeger E., Demling L.:
Gastric mucosal blood flow and pepsin secre-
tion in dogs - stimulation by 13-nle-motilin.
Scand. J. Gastroenterol. 1976.

55. Konturek S.J.: Gastrin-like pentapeptide I.C.I.
50123: A potent gastric stimulant in man.
Amer. J. dig. Dis. 12:285 - 292, 1967.
56. Kulka R.G., Sternlicht E.: Enzyme secretion in
mouse pancreas mediated by adenosine - 3',
5'-cyclic phosphate and inhibited by adenosine-
3'-phosphate.
Proc. nat. Acad. Sci.(Wash.) 61:1123-1128, 1968.
57. Levine R.A., Washington A.: Gastroenterology 64:177 /
863, 1973.
58. Lilienthal B.: The buffer systems in human saliva:
Dent.J.Australia 25 : 216, 1953.
59. Lilienthal B.: An analysis of the buffer systems in
saliva: J.D. Res. 1955.
60. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.:
Protein measurement with the folin phenol re-
agent.
J. biol. Chem. 193:265 - 275, 1951.
61. Masou M.C., Giles G.R., Clark C.G.:
Continuous intravenous pentagastrin as a stimu-
lant of maximal gastric acid secretion.
Gut 10:34 - 38, 1969.
62. Miller D.L., Schedl H.P.: Total recovery studies
of nonabsorbable indicators in the rat small
intestine.
Gastroenterology 58 : 40 - 46, 1970.

63. Mulcahy H., Fitzgerald O., Mc. Geeney K.F.:
Secretin and pancreozymin effect on salivary amylase concentration in man. Gut 13 : 850, 1972.
64. Murad F., Chi Y.-M., Rall T.W., Sutherland E.W.:
Adenyl cyclase III. The effect of catecholamines and choline esters on the formation of adenosine-3', 5'-phosphate by preparations from cardiac muscle and liver.
J. biol. Chem. 237:1233 - 1238, 1962.
65. Norpoth L., Surmann T., Wieneken A., Clösge J.:
Erweiterung der Magendiagnostik durch den Nachweis pathologischer Eiweißkörper im Magensaft.
Ärztl. Wschr. 11:150 - 152, 1956.
66. Orloff J., Handler J.S.: The stimulatory effect of vasopressin, adenosine -3', 5'-phosphate (cyclic AMP) and theophylline on the toad bladder.
J. clin. Invest. 41:702 - 709, 1962.
67. Ottenjann R.: Moderne Sekretionsanalysen des Magens.
Fortschr. Med. 86 : 1087 - 1090, 1968.
68. Ottenjann R.: Spezielle Untersuchungsmethoden.
L. Demling, Der kranke Magen: 64-84, Urban und Schwarzenberg, München/Berlin/Wien, 1970.
69. Piper D.W., Fenton B.H.: pH-stability and activity curves of pepsin with special reference to their clinical importance.
Gut 6:506 - 508, 1965.

70. Piper D.W., Griffith E.M., Fenton B.H., Beeston D.:
Protein content of gastric juice.
Gut 6:599 - 605, 1965.
71. Prince W.T., Berridge M.J., Rasmussen H.:
Role of calcium and adenosine -3', 5'-cyclic
monophosphate in controlling fly salivary
gland secretion.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69: No 3, 553-557,
1972.
72. Rall T.W., Sutherland E.W.: Adenylcyclase II. The
enzymatically catalyzed formation of adenosine-
3', 5'-phosphate and inorganic pyrophosphate
from adenosinetriphosphate.
J. biol. Chem. 237 : 1228 - 1232, 1962.
73. Rall T.W., Sutherland E.W., Berthet J.:
The relationship of epinephrine and glucagon
to liver phosphorylase.
IV. Effect of epinephrine and glucagon on the
reactivation of phosphorylase in liver homo-
genates.
J. biol. Chem. 224 : 463 - 475, 1957.
74. Ray T.K., Forte J.G.: Arch. Biochem. 155 : 24 - 31,
1973.
75. Rick W., Fritsch W.P.: Pepsin, Methoden der enzima-
tischen Analyse.
HU Bergmeyer (ed). Weinheim/Bergstr., Verlag
Chemie pp 962-966, 1970.

76. Rick W., Stegbauer H.P.: -- Amylase.
Methoden der enzymatischen Analyse.
HU Bergmeyer (ed). Weinheim/Bergstr.,
Verlag Chemie, pp 848 - 853, 1970.
77. Ridderstrap A.S.: Mechanisms involved in exocrine
pancreatic secretion.
Thesis. Centrale Drukkerij, Nijmegen 1969.
78. Robertson C.R., Rosiere C.E., Blickenstaff D.,
Grossmann M.T.: J. Pharmacol Exp. Ther.
99 : 362 - 365, 1950.
79. Robinson G.A., Butcher R.W., Sutherland E.W.:
Cyclic AMP. Ann. Rev. Biochem. 37 : 149 -
174, 1968.
80. Roth J.A., Ivy A.C.: The effect of caffeine upon
gastric secretion in the dog, cat and man.
Amer. J. Physiol. 141 : 454 - 461, 1944.
81. Ruoff H.J., Sewing K.-F.: Scand. J. Gastroent.
8:241 - 243, 1973.
82. Ruppin H., Domschke S., Domschke W., Wunsch E.,
Jaeger E., Demling L.:
Effects of 13-nle-motilin in man - inhibition
of gastric evacuation and stimulation of pepsin
secretion.
Scand. J. Gastroent. 10 : 199 - 202, 1975.
83. Sachs L.: Statistische Auswertungsmethoden.
3. Auflage Springer-Verlag Berlin/Heidelberg/
New York, 1971.
84. Sand H.F.: Source of bicarbonate of saliva.
J. Appl. Physiol. 4 : 66, 1951.

85. Schanker L.S., Shore P.A., Brody B.B., Hogben C.A.M.:
Absorption of drugs from the stomach:
1. The rat. J. Pharmacol. exp. Ther. 120:528-539, 1957.
86. Schedl H.P., Clifton J.A.: Small intestinal absorption of steroids.
Gastroenterology 41:491 - 499, 1961.
87. Schlotthauer B., Nöller H.G.: Ergebnisverfälschung bei den Magenuntersuchungen bedingt durch die Schlauchtechnik.
Münch. med. Wschr. 106:785 - 789, 1964.
88. Schragar J.: Chromatographic studies of the carbohydrate components of gastric and salivary mucopolysaccharides.
Gut 5 : 166 - 169, 1964.
89. Schragar J.: The composition and some structural features of the principal gastric glycoproteins.
Digestion 2 : 73 - 89, 1969.
90. Schragar J.: The chemical composition and function of gastrointestinal mucus.
Gut 11 : 450 - 456, 1970.
91. Shaw J.E., Ramwell P.W.: Inhibition of gastric secretion in rats by prostaglandin E_1 . In Prostaglandin Symposium of the Worcester Foundation of Experimental Biology, edited by P.W.Ramwell and J.E. Shaw, pp 55 - 66. Interscience, New York.

92. Snedecor G.W., Cochran W.G.: Statistical Methods.
Sixth ed. Ames. Iowa, Iowa State University
Press, 1967.
93. Sumner J.B.: J. biol. Chem. 47 : 5, 1921.
94. Sutherland E.W., Oye J. Butcher R.W.:
The action of epinephrine and the role of
the adenylyl cyclase system in hormone action.
Recent Progr. Hormone Res. 21 : 623 - 646,
1965.
95. Sutherland E.W., Rall T.W., Menon T.:
Adenylyl cyclase. I. Distribution, preparation
and properties.
J. biol. Chem. 237 : 1220 - 1227, 1962.
96. Wah Leung S.: A demonstration of the importance
of bicarbonate as a salivary buffer.
J.D. Res. 30 : 403, 1951.
97. Waissblut J.G., Langman M.J.S.:
Gut 12 : 646 - 649, 1971.
98. Warren L.: The thiobarbituric acid assay of sialic
acids.
J. biol. Chem. 234 : 1971 - 1975, 1955.
99. Weber E.: Grundriß der biologischen Statistik.
6. Auflage, Gustav-Fischer-Verlag Stuttgart,
1967.
100. Wills J.H.: Electrolyte changes in submaxillary
glands during stimulation.
Amer. J. Physiol. 135 : 164, 1941.

101. Wlodek G.K., Adair R.K.: Effect of feeding on ionic and volume changes within Heidenhain pouches.
J. Surg. Res. 9 : 119 - 127, 1969.
102. Wünsch E., Brown J.C., Deimer K.H., Drees F.
Jaeger E. Musiol J., Scharf R. Stocker H.,
Thamm P., Wendelberger G.:
Zur Synthese von Norleucin-13-Motilin.
Z. Naturforsch. 28c : 235 - 240, 1973.

- - -

VII. LEBENSLAUF

Bertram Alexander Schmack

geb. am 12. Mai 1944 in Katscher/OS

als Sohn des Guts- und Ziegeleibesitzers Kurt Schmack
und seiner Ehefrau Emilie, geb. Vlahovits von Dragomirest.

Schulbildung und Studium:

1950 - 1953 Volksschule in Thanhausen/Opf.

1953 - 1954 Volksschule in Hausen/Ndb.

1954 - 1955 Oberrealschule in Kelheim/Do.

1955 - 1963 Oberrealschule in Regensburg.

Reifezeugnis dieser Schule vom 17.7.1963

Wintersemester 63/64 Beginn des Chemiestudiums an der
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

Diplomchemiker-Vorexamen am 17.12.1965.

Diplomchemiker-Hauptexamen am 23.2.1968.

Diplomarbeit vom März 1968 - Dezember 1968.

"Über die Reaktionsweisen des Methylpentacarbonylmangans
 $\text{CH}_3\text{Mn}(\text{CO})_5$ in flüssigem Ammoniak".

Doktorarbeit vom Januar 1969 - Dezember 1970 "Beiträge
zur Chemie der Alkyl- und Aryl-pentacarbonyl-Verbindungen
des Mangans und Rheniums".

Von Juli 1968 - Oktober 1971 wissenschaftliche Hilfskraft, Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle und wissenschaftlicher Assistent am Institut für Anorganische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg.

Im WS 1971/72 Beginn des Medizinstudiums an der Universität Erlangen-Nürnberg.

Naturwissenschaftlicher Teil der ärztlichen Vorprüfung am 30. 3. 1972.

Ärztliche Vorprüfung am 17.4.1973.

Staatsexamen am 16.8.1976.

Von April 1974 - Juli 1976 Durchführung dieser medizinischen Doktorarbeit an der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen.

Seit dem Sommersemester 1972 Mitglied der Studienstiftung Des Deutschen Volkes.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990